



등록특허 10-2321883



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년11월03일
(11) 등록번호 10-2321883
(24) 등록일자 2021년10월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/14 (2006.01) *A61K 31/4155* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) *A61K 9/48* (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01) *C07D 403/12* (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 403/14 (2013.01)
A61K 31/4155 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7019130(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2015년05월14일
심사청구일자 2019년07월02일
- (85) 번역문제출일자 2019년07월02일
- (65) 공개번호 10-2019-0083377
- (43) 공개일자 2019년07월11일
- (62) 원출원 특허 10-2016-7035164
원출원일자(국제) 2015년05월14일
심사청구일자 2018년09월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/030795
- (87) 국제공개번호 WO 2015/175788
국제공개일자 2015년11월19일
- (30) 우선권주장
61/993,426 2014년05월15일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2012158413 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

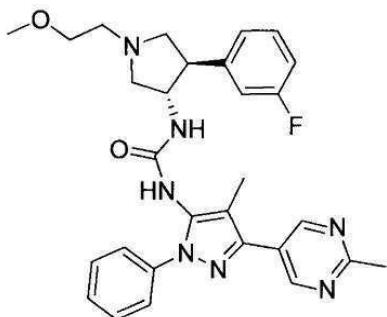
전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 TrkA 키나제 저해제로서의 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸피리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아

(57) 요 약

TrkA 키나제의 저해제이고 TrkA 키나제 저해제로 치료될 수 있는 질환, 예컨대, 통증, 암, 염증 및 염증성 질환, 신경변성 질환, 소정의 감염성 질환, 쇼그렌 증후군, 자궁내막증, 당뇨병성 말초 신경병증, 전립선염, 골반 통증 증후군, 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 및 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료에 유용한, 하기 화합물 (I) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:



(52) CPC특허분류

A61K 31/506 (2013.01)

A61K 9/0053 (2013.01)

A61K 9/20 (2013.01)

A61K 9/48 (2013.01)

C07D 401/14 (2013.01)

C07D 403/12 (2013.01)

C07D 405/14 (2013.01)

(72) 발명자

베어, 브라이언

미국 80301 콜로라도주 볼더 월넛 스트리트 3200
어레이 바이오파마 인크. 내

크레인, 잭캐리

미국 80301 콜로라도주 볼더 월넛 스트리트 3200
어레이 바이오파마 인크. 내

리우, 웨이동

미국 80301 콜로라도주 볼더 월넛 스트리트 3200
어레이 바이오파마 인크. 내

왓슨, 다니엘 존

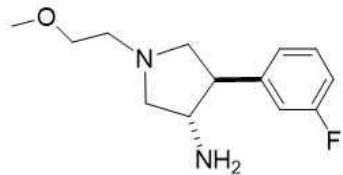
미국 80301 콜로라도주 볼더 월넛 스트리트 3200
어레이 바이오파마 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

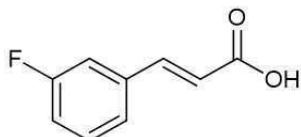
하기 화학식 II-A의 화합물의 라세미 혼합물의 제조방법으로서:



II-A

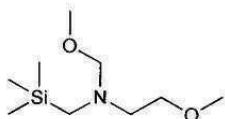
상기 방법은,

(a) 촉매량의 산의 존재 하에, 하기 화학식 (a)의 화합물:

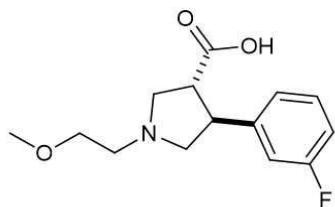


(a)

을 하기 화학식을 가진 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민:

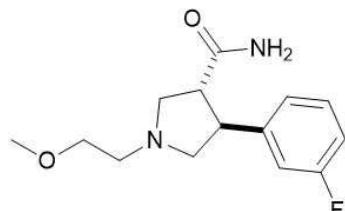


과 반응시켜 하기 화학식 (b)의 화합물을 제공하는 단계:



(b)

(b) 촉매량의 이미다졸 염산염의 존재 하에, 상기 화학식 (b)의 화합물을 카보닐 다이이미다졸과 반응시키고 나서, 암모니아로 처리하여, 하기 화학식 (c)를 가진 화합물을 제공하는 단계:



(c)

; 및

(c) 상기 화학식 (c)의 화합물을 차아염소산나트륨과 반응시키고 나서, KOH로 처리한 후, 이어서 HCl로 처리하여, 상기 화학식 II-A의 화합물을 트랜스 화학식 II-A의 라세미 혼합물로서 제공하는 단계를 포함하는, 화학식 II-A의 화합물의 라세미 혼합물의 제조방법.

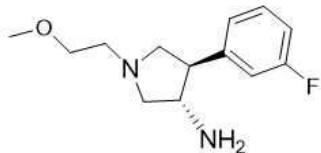
청구항 2

제1항에 있어서, 트랜스 화학식 II-A의 거울상 이성질체 1을 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염으로서 또는 유리 염기로서 단리시키는 단계를 더 포함하되 상기 단리시키는 단계는 하기 단계들을 포함하는, 화학식 II-A의 화합물의 라세미 혼합물의 제조방법:

라세미 트랜스 화학식 II-A를 다이-p-톨루오일-D-타르타르산으로 처리하여 라세미 트랜스 II-A의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 제공하는 단계;

상기 트랜스 II-A의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 재결정화시켜, 트랜스 II-A의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 제공하는 단계; 및 임의로

상기 트랜스 II-A의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 무기 염기로 처리하여, 하기에 나타낸 바와 같은 절대 입체배치를 가진 트랜스 II-A의 거울상 이성질체 1의 유리 염기를 제공하는 단계:



II-A

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 화합물, 해당 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 이 화합물의 제조방법 및 이 화합물을 제조하기 위한 중간생성물, 그리고 이 화합물의 요법에서의 용도에 관한 것이다. 더욱 구체적으로는, 본 발명은, TrkA 키나제 저해를 발휘하고, 통증, 암, 염증/염증성 질환, 신경변성 질환, 소정의 감염성 질환, 쇼그렌 증후군, 자궁내막증, 당뇨병성 말초 신경병증, 전립선염, 골반 통증 증후군, 골리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 및 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료에 유용한, 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸피리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 통증 상태에 대한 현재의 치료 요법은 수개 부류의 화합물을 이용한다. 아편유사제(opioid)(예컨대, 몰핀)는 구토, 변비 및 음성 호흡 작용뿐만 아니라 중독의 가능성을 비롯한 수개의 단점을 지닌다. 비스테로이드성 항염증 성 진통제(NSAID, 예컨대, COX-1 혹은 COX-2 유형)는 또한 심한 통증을 치료하는데 있어서 불충분한 효능을 비롯하여 결점을 지닌다. 또한, COX-1 저해제는 점막의 궤양을 유발할 수 있다. 따라서, 통증, 특히 만성 통증의 완화를 위하여 새롭고도 더욱 효과적인 치료를 위한 지속적인 요구가 있다.

[0003] Trk는 뉴트로핀(neurotrophin: NT)이라 불리는 가용성 성장 인자의 군에 의해 활성화된 높은 친화도 수용체인 티로신 키나제이다. Trk 수용체 족은 3가지 구성요소, 즉, TrkA, TrkB 및 TrkC를 지닌다. 이중, 뉴트로핀은 (i) TrkA를 활성화시키는 신경 성장 인자(nerve growth factor: NGF), (ii) TrkB를 활성화시키는 뇌-유래 신경영양 인자(brain-derived neurotrophic factor: BDNF) 및 NT-4/5 및 (iii) TrkC를 활성화시키는 NT3이다. Trk는 신경 조직에서 광범위하게 발현되고 신경 세포의 유지, 신호전달 및 생존에 연루된다(Patapoutian, A. et al., *Current Opinion in Neurobiology*, 2001, 11, 272-280).

[0004] Trk/뉴트로핀 경로의 저해제는 많은 임상전 동물 모델의 통증에 효과적인 것으로 입증되었다. 예를 들어, RN-624 등과 같은 길항적 NGF 및 TrkA 항체는 염증 및 신경병증 통증 동물 모델(Woolf, C. J. et al. (1994) *Neuroscience* 62, 327-331; Zahn, P. K. et al. (2004) *J. Pain* 5, 157-163; McMahon, S. B. et al., (1995)

Nat. Med. 1, 774-780; Ma, Q. P. and Woolf, C. J. (1997) *NeuroReport* 8, 807-810; Shelton, D. L. et al. (2005) *Pain* 116, 8-16; Delafoy, L. et al. (2003) *Pain* 105, 489-497; Lamb, K. et al. (2003) *Neurogastroenterol. Motil.* 15, 355-361; Jaggar, S. I. et al. (1999) *Br. J. Anaesth.* 83, 442-448) 및 신경병증 통증 동물 모델(Ramer, M. S. and Bisby, M. A. (1999) *Eur. J. Neurosci.* 11, 837-846; Ro, L. S. et al. (1999) *Pain* 79, 265-274; Herzberg, U. et al., (1997) *Neuroreport* 8, 1613-1618; Theodosiou, M. et al. (1999) *Pain* 81, 245-255; Li, L. et al. (2003) *Mol. Cell. Neurosci.* 23, 232-250; Gwak, Y. S. et al. (2003) *Neurosci. Lett.* 336, 117-120)에서 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0005] 또한, 종양 세포 및 종양 침윤 대식세포에 의해 분비된 NGF가 직접 말초성 통증 섬유 상에 위치하는 TrkA를 자극시키는 것이 알려져 있다. 마우스와 래트 둘 다의 각종 종양 모델을 이용함으로써, 단클론성 항체로 NGF를 중화시키는 것이 몰핀의 최고 내성 용량과 유사하거나 우수한 정도로 암 관련 통증을 저해하는 것이 입증되어 있었다. TrkA 키나제가 NGF 유발 생물학적 반응의 매개체로서 역할할 수 있기 때문에, TrkA의 저해제 및/또는 기타 Trk 키나제가 만성 통증 상태 및 암 관련 통증의 효과적인 치료를 제공할 수 있다.

[0006] 최근의 문헌은 또한 Trk 키나제의 과발현, 활성화, 증폭 및/또는 돌연변이가 신경아세포종(Brodeur, G. M., *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 203-216), 난소 (Davidson, B., et al., *Clin. Cancer Res.* 2003, 9, 2248-2259), 결장직장암(Bardelli, A., *Science* 2003, 300, 949), 흑색종(Truzzi, F., et al., *Dermato-Endocrinology* 2011, 3(1), pp. 32-36), 두경부암(Yilmaz, T., et al., *Cancer Biology and Therapy* 2010, 10(6), pp. 644-653), 위 암종(Du, J. et al., *World Journal of Gastroenterology* 2003, 9 (7), pp. 1431-1434), 폐암종(Ricci A., et al., *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 25 (4), pp. 439-446), 유방암(Jin, W., et al., *Carcinogenesis* 2010, 31 (11), pp. 1939-1947), 분비성 유방암(Euthus, D.M., et al., *Cancer Cell* 2002, 2 (5), pp. 347-348), 교모세포종(Wadhwa, S., et al., *Journal of Biosciences* 2003, 28 (2), pp. 181-188), 수모세포종(Gruber-Olipitz, M., et al., *Journal of Proteome Research* 2008, 7 (5), pp. 1932-1944), 침샘암(Li, Y.-G., et al., *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment* 2009, 16 (6), pp. 428-430), 유두상 갑상선 암종(Greco, A., et al., *Molecular and Cellular Endocrinology* 2010, 321 (1), pp. 44-49) 및 성인 골수성 백혈병(Eguchi, M., et al., *Blood* 1999, 93 (4), pp. 1355-1363)을 포함하는 많은 암과 연관되어 있는 것을 나타내고 있다. 암의 임상전 모델에서, TrkA, B 및 C의 비선택적 소분자 저해제는 종양 성장의 저해 및 종양 전이의 중지의 둘 모두에서 효과적이다(Nakagawara, A. (2001) *Cancer Letters* 169:107-114; Meyer, J., et al. (2007) *Leukemia*, 21(10):2171-2180; Pierottia, M.A. and Greco A., (2006) *Cancer Letters* 232:90-98; Eric Adriaenssens, E., et al. *Cancer Res* (2008) 68:(2) 346-351). 이들 데이터는 암의 치료를 위한 Trk 저해제의 사용을 위한 근거를 뒷받침한다.

[0007] 또한, 뉴트로핀/Trk 경로의 저해는 NGF 항체 혹은 TrkA의 비선택적 소분자 저해제에 의한 염증성 질환의 임상전 모델의 치료에서 효과적인 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 뉴트로핀/Trk 경로의 저해는 천식을 비롯한 염증성 폐질환(Freund-Michel, V; Frossard, N., *Pharmacology & Therapeutics* (2008) 117(1), 52-76), 간질성 방광염(Hu Vivian Y; et. al. *The Journal of Urology* (2005), 173(3), 1016-21), 방광 통증 증후군(Liu, H.-T., et al., (2010) *BJU International*, 106 (11), pp. 1681-1685), 궤양성 대장염 및 크론병을 비롯한 염증성 장 질환(Di Mola, F. F, et. al., *Gut* (2000) 46(5), 670-678) 및 아토피 피부염 등과 같은 염증성 피부 질환(Dou, Y.-C., et. al. *Archives of Dermatological Research* (2006) 298(1), 31-37), 습진 및 건선(Raychaudhuri, S. P., et al., *J. Investigative Dermatology* (2004) 122(3), 812-819)의 임상전 모델에서 연루되어 있었다. 이들 데이터는 염증성 질환의 치료를 위한 Trk 저해제의 사용을 위한 근거를 뒷받침한다.

[0008] TrkA 수용체는 또한 인간 숙주에서의 트리파노소마 크루즈(사가스병)의 기생충 감염의 감염에서의 질환 과정에 중요한 것으로 여겨지고 있다(de Melo-Jorge, M. et al., *Cell Host & Microbe* (2007) 1(4), 251-261).

[0009] Trk 저해제는 또한 골다공증, 류마티스 관절염 및 골 전이 등과 같은 골 리모델링을 조절하는 불균형에 관련된 질환을 치료하는데 있어서의 용도를 발견할 수 있다. 골 전이는 진행된 유방 혹은 전립선 암을 지닌 환자의 70% 까지에서, 그리고 폐, 결장, 위, 방광, 자궁, 직장, 갑상선 또는 신장의 암종을 지니는 환자의 대략 15 내지 30%에서 일어나는 암의 빈번한 합병증이다. 골다공증 관련 전이는 심한 통증, 병적 골절, 생명을 위협하는 고칼슘혈증, 척수 압박 및 기타 신경-압축 증후군을 유발할 수 있다. 이들 이유로, 골 전이는 암의 중증의 비용이 많이 드는 합병증이다. 따라서, 조골세포를 증식시키는 세포자멸사를 유발할 수 있는 제제는 고도로 유리할 것이다. TrkA 수용체의 발현은 뼈 골절의 마우스 모델에서 골 형성 영역에서 발견된 바 있다(K. Asaumi, et al., *Bone* (2000) 26(6) 625-633). 또한, NGF의 국소화는 거의 모든 골 형성 세포에서 관찰되었다(K. Asaumi, et al., *Bone* (2000) 26(6) 625-633). 최근에, Trk 저해제가 인간 hFOB 조골세포에서 Trk 수용체들 중 세 개 모두

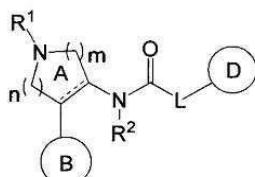
에 결합되는 뉴트로핀에 의해 활성화된 티로신 신호전달을 저해하는 것이 입증되었다(J. Pinski, et al., *Cancer Research* (2002) 62, 986-989). 이를 데이터는 암 환자에서 골 전이 등과 같은 골 리모델링 질환의 치료를 위한 Trk 저해제의 용도를 위한 근거를 뒷받침한다.

[0010] Trk 저해제는 또한 쇼그렌 증후군(Fauchais, A.L., et al., (2009) *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 38(1), pp. 50-57), 자궁내막증(Barcena De Arellano, M. L., et al., (2011) *Reproductive Sciences*, 18(12), pp. 1202-1210; Barcena De Arellano, et al., (2011) *Fertility and Sterility*, 95(3), pp. 1123-1126; Cattaneo, A., (2010) *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 12(1), pp. 94-106), 당뇨병성 말초 신경병증(Kim, H.C., et al., (2009) *Diabetic Medicine*, 26 (12), pp. 1228-1234; Siniscalco, D., et al., (2011) *Current Neuropharmacology*, 9(4), pp. 523-529; Ossipov, M. H., (2011) *Current Pain and Headache Reports*, 15(3), pp. 185-192), 및 전립선염 및 골반 통증 증후군(Watanabe, T., et al., (2011) *BJU International*, 108(2), pp. 248-251; 및 Miller, L. J., et al., (2002) *Urology*, 59(4), pp. 603-608) 등과 같은 질환 및 장애를 치료함에 있어서 용도를 발견할 수 있다.

[0011] TrkA 저해제는 또한 결합 조직 성장 인자(CTGF, 또는 CCN2라고도 지칭됨) 이상 신호 전달에 기인하는 질환, 예를 들어, 조직 리모델링 및 섬유증과 연루된 질환을 치료하는데 유용할 수 있다. CTGF는 조직 리모델링 및 섬유증의 중요 매개자이고(Lipson, K. E., et al., (2012), *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2012, 5(Suppl 1):S24) 그리고 CTGF 신호전달을 감소시키는 요법은 섬유증의 치료로서 효과적인 것을 입증되었다(Li, G., et al., *J. Gene Med.*, 2006, 8:889-900). CTGF는 TrkA와 상호작용하고 이를 활성화시키며(Wahab, N. A., (2005) *J. Am. Soc. Nephrol.* 16:340-351) 그리고 TrkA 저해제의 이 경로의 저해는 레이노드 증후군, 특발성 폐 섬유증, 반흔(비대성, 켈로이드 등), 간경병증, 심내막심근 섬유증, 심방성 섬유증, 골수섬유증, 진행성 괴상 섬유증(폐), 신원성 전신 섬유증, 피부경화증, 전신 경화증, 관절섬유증 및 안구 섬유증 등과 같은 각종 섬유증 질환을 치료하는데 유용한 것으로 입증될 수 있다.

[0012] 통증 및 암을 치료하는데 유용한 것으로 일컬어지는 수개의 부류의 Trk 키나제의 소분자 저해제가 공지되어 있다(Wang, T et al., *Expert Opin. Ther. Patents* (2009) 19(3), 305-319; McCarthy C. and Walker E., *Expert Opin. Ther. Patents* 2014, 24(7):731-744).

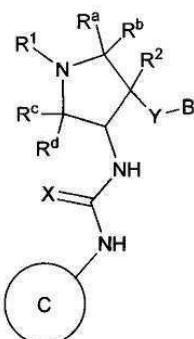
[0013] 국제 출원 공개 제WO 2010/032856호는, 타카키닌 수용체 길항제인 것으로 역설되는, 하기 화학식으로 표시되는 화합물을 기술한다:



[0014]

[0015] 식 중, 고리 B는 방향족 고리이고, 고리 D는 방향족 고리이며, 그리고 L은 NR^3 , $\text{NR}^3\text{C}(\text{R}^{4a}\text{R}^{4b})$, O 또는 $\text{OC}(\text{R}^{4a}\text{R}^{4b})$ 이다.

[0016] 국제 출원 공개 제WO 2012/158413호는 하기 일반식을 가진 TrkA 저해제로서의 피롤리딘일 유레아 화합물의 서브 세트를 개시한다:



[0017]

[0018] 식 중,

[0019] Y는 결합, -O- 또는 $-OCH_2-$ 이고;

[0020] X는 O, S 또는 NH이며;

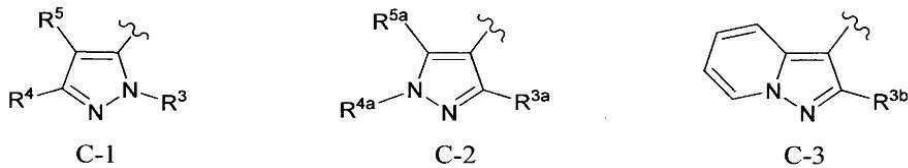
[0021] R¹은 (1-3C 알콕시)(1-6C)알킬, (트라이플루오로메톡시)(1-6C)알킬, (1-3C 설플라우드)(1-6C)알킬, 모노플루오로(1-6C)알킬, 다이플루오로(1-6C)알킬, 트라이플루오로(1-6C)알킬, 테트라플루오로(2-6C)알킬, 펜타플루오로(2-6C)알킬, 사이아노(1-6C)알킬, 아미노카보닐(1-6C)알킬, 하이드록시(1-6C)알킬, 다이하이드록시(2-6C)알킬, (1-6C)알킬, (1-3C알킬아미노)(1-3C)알킬, (1-4C 알콕시카보닐)(1-6C)알킬, 아미노(1-6C)알킬, 하이드록시(1-3C 알콕시)(1-6C)알킬, 다이(1-3C 알콕시)(1-6C)알킬, (1-3C 알콕시)트라이플루오로(1-6C)알킬, 하이드록시트라이플루오로(1-6C)알킬, (1-4C 알콕시카보닐)(1-3C 알콕시)(1-6C)알킬, 하이드록시카보닐(1-3C 알콕시)(1-6C)알킬, hetAr⁵(CH₂)₀₋₁ 또는 Ar⁵(CH₂)₀₋₁이고;

[0022] hetAr⁵는 N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 고리 혼테로원자를 지닌 5 내지 6원 혼테로아릴 고리이며, 여기서 해당 고리는 할로겐, (1-6C)알킬, (1-6C)알콕시 및 CF₃로부터 독립적으로 선택된 하나 이상의 치환체로 임의로 치환되고;

[0023] Ar⁵는 할로겐, (1-6C)알킬, (1-6C)알콕시, CF₃O-, (1-4C)알콕시카보닐 및 아미노카보닐로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 기로 임의로 치환된 폐닐이며;

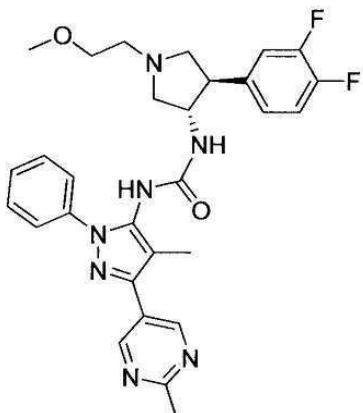
[0024] B는 할로겐, CF₃, CF₃O-, (1-4C)알콕시, 하이드록시(1-4C)알킬, (1-6C)알킬 및 CN으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환체로 임의로 치환된 폐닐; N, S 및 O로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 고리 혼테로원자를 지니고 그리고 (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 하이드록시(1-2C)알킬; 1-6C 알킬; 또는 (1-6C)알콕시로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된 5 내지 6원 혼테로아릴이며; 그리고

[0025] 고리 C는 하기 화학식 C-1, C-2 또는 C-3이다:



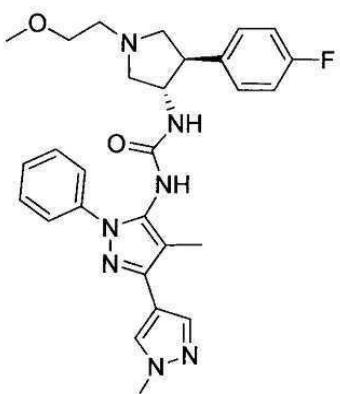
[0026]

[0027] WO 2012/158413에 있어서의 이러한 화합물의 예들은 하기 구조:



[0028]

[0029] 를 가진, 1-((3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸페리미딘-5-일)-1-페닐-1H-페라졸-5-일)유래아(이하 "화합물 2")라고도 알려진 실시예 511의 화합물, 및 하기 구조:



[0030]

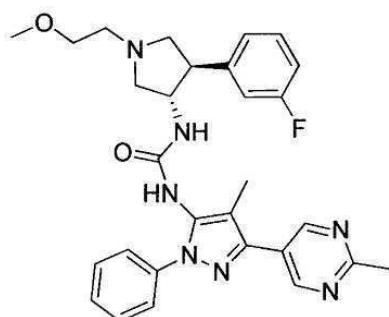
[0031] 를 가진, 1-(1',4-다이메틸-1-페닐-1H,1'H-[3,4'-바이파라졸]-5-일)-3-((3S,4R)-4-(4-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일)유레아(이하 "화합물 3")로도 공지된 실시예 441의 화합물을 포함한다.

[0032] 이제 예기치 않은 특히 바람직한 특성을 지닌 화합물이 R⁴기로서 2-메틸파리미딘-5-일을 그리고 B기로서 3-플루오로페닐을 선택함으로써 얻어질 수 있는 것을 발견하였다.

발명의 내용

[0033]

TrkA의 저해제인 하기 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다:

**1**

[0034]

[0035] 이 화합물은 또한 화학명 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아로 기재될 수도 있다.

[0036]

화합물 1이 화합물 2 및 3에 비해서 래트에서 실질적으로 낮은 예측된 인간 IV(정맥내) 청소율을 지니는 것이 예기치 않게 발견되었다. 또한 화합물 1이 화합물 2 및 3에 비해서 래트에서 10 mg/kg의 경구 용량 투약 후 더 높은 경구 AUC(혈장 약물 농도-시간 곡선 하 면적)을 달성하는 것이 예기치 않게 발견되었다. 또한 화합물 1이 화합물 2 및 3에 비해서 래트에서 10 mg/kg의 경구 용량 투약 후 더 높은 Cmax(혈장 약물 농도-시간 곡선에서 달성된 최대 농도)를 달성하는 것이 예기치 않게 발견되었다. 또한 화합물 1이 화합물 2 및 3에 비해서 래트에서 10 mg/kg의 경구 용량 투약 후 더 높은 최저 농도(혈장 약물 농도-시간 곡선에서 달성된 최소 놓도)를 달성하는 것이 예기치 않게 발견되었다. 화합물 1이 화합물 2 및 3에 비해서 더 높은 추정된 TrkA의 저해를 갖는 것이 예기치 않게 발견되었다. 화합물 1은, 래트에서 경구 투여 후 더 높은 혈장 대 뇌 비에 의해 입증되는 바와 같이, 화합물 2에 비해서 예기치 않게 개선된 말초-대-중추 신경계 분포를 또한 갖는다. 화합물 1은 화합물 2에 비해서 hERG(human Ether - α -go-go-Related Gene) 통로의 저해 활성의 예기치 않은 감소를 또한 갖는다.

[0037]

또한, 본 명세서에서는, TrkA에 의해 조절된 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0038]

또한, 본 명세서에서는, 염증성 통증, 신경병증 통증, 및 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 만성 및 급성 통증을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0039] 또한, 본 명세서에서는, 암을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0040] 또한, 본 명세서에서는, 염증 또는 염증성 질환을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0041] 또한, 본 명세서에서는, 신경변성 질환을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0042] 또한, 본 명세서에서는, 전립선염 또는 골반 통증 증후군을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0043] 또한, 본 명세서에서는, 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 예컨대, 골다공증, 류마티스 관절염, 및 골 전이를 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0044] 또한, 본 명세서에서는, 소정의 감염성 질환, 쇼그렌 증후군, 자궁내막증, 및 당뇨병성 말초 신경병증으로부터 선택된 질환 및 장애를 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0045] 또한, 본 명세서에서는, 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0046] 일 실시형태에 있어서, 상기 치료들 중 어느 것이라도 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 추가의 치료제 와 병용하여 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0047] 또한, 본 명세서에서는, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.
- [0048] 또한, 본 명세서에서는, 요법에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0049] 또한, 본 명세서에서는, 염증성 통증, 신경병증 통증, 및 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 만성 및 급성 통증의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0050] 또한, 본 명세서에서는, 암의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0051] 또한, 본 명세서에서는, 염증 또는 염증성 질환의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0052] 또한, 본 명세서에서는, 신경변성 질환의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0053] 또한, 본 명세서에서는, 전립선염 또는 골반 통증 증후군의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0054] 또한, 본 명세서에서는, 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 예컨대, 골다공증, 류마티스 관절염 및 골 전이의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0055] 또한, 본 명세서에서는, 소정의 감염성 질환, 쇼그렌 증후군, 자궁내막증 및 당뇨병성 말초 신경병증의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0056] 또한, 본 명세서에서는, 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료에서 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.
- [0057] 또한, 본 명세서에서는, 염증성 통증, 신경병증 통증, 및 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 만성 및 급성 통증 등과 같은 질환 및 장애의 치료를 위한 약제의 제조에서의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다.

- [0058] 또한, 본 명세서에서는, 암, 염증 또는 염증성 질환, 신경변성 질환, 소정의 감염성 질환, 쇼그렌 증후군, 자궁 내막증, 당뇨병성 말초 신경병증, 전립선염, 골반 통증 증후군, 및 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 예컨대, 골다공증, 류마티스 관절염 및 골 전이로부터 선택된 질환 및 장애의 치료용의 약제의 제조에서의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다.
- [0059] 또한, 본 명세서에서는, 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료용의 약제의 제조에서의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다.
- [0060] 또한, 본 명세서에서는, TrkA 저해 화합물, 예컨대, 화합물 1을 제조하는데 유용한 중간생성물, 및 이러한 중간 생성물의 제조 방법이 제공된다.
- [0061] 또한, 본 명세서에서는, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조 방법, 분리 방법 및 정제 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0062] 도 1은 래트에서 10 mg/kg 경구 용량 투약 후 화합물 1(삼각형) 및 화합물 2(정사각형)에 대해서 혈장 약물 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$) 대 시간(hr)을 비교한 그래프;
- 도 2는 래트에서 10 mg/kg 경구 용량 투약 후 화합물 1(삼각형) 및 화합물 3(원)에 대해서 혈장 약물 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$) 대 시간(hr)을 비교한 그래프;
- 도 3은 래트에서 10 mg/kg 경구 용량 투약 후 화합물 1(삼각형) 및 화합물 2(정사각형)에 대해서 추정된 TrkA 저해 퍼센트 대 시간(hr)을 비교한 그래프;
- 도 4는 래트에서 10 mg/kg 경구 용량 투약 후 화합물 1(삼각형) 및 화합물 3(원)에 대해서 추정된 TrkA 저해 퍼센트 대 시간(hr)을 비교한 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0063] 본 명세서에서는, TrkA의 저해제인 하기 화합물 1:



- [0064]
- [0065] 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 이 화합물은 또한 화학명 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸페리미딘-5-일)-1-페닐-1H-페라졸-5-일)유레아로 기재될 수도 있다.
- [0066] 화합물 1은 특히 예상되지 않은 바람직한 특성을 지니는 것으로 판명되었다. 화합물 1의 하나의 특히 유리한 특성은, 표 1에 나타낸 바와 같이, 화합물 2 및 화합물 3 둘 다에 대해서 예측되는 인간 IV 청소율에 비해서 실질적으로 낮은 그의 예측되는 인간 IV 청소율이다.

표 1

화합물	종	IV 청소율 (mL/분/kg)	마이크로솜 청소율(mL/분/kg)	생체내 / 시험관내 보정 인자
화합물 1	마우스	NA *	50	NA *
	Rat	15	22	1.47
	개	7.6	24	3.16
	원숭이	20	33	1.65
	인간	5 (예측됨)**	9.8	2.09 ***
화합물 2	마우스	42	57	1.36
	래트	29	22	0.76
	개	25	26	1.04
	원숭이	18	38	2.11
	인간	12 (예측됨)**	14	1.32 ***
화합물 3	마우스	71	60	0.85
	래트	26	23	0.88
	개	18	23	1.28
	원숭이	38	32	0.84
	인간	10 (예측됨)**	10	0.96 ***

* 입수 불가능

** 임상전 종에 대해서 관찰된 평균 보정 분획이 인간에 대한 IV 청소율을 예측하는데 이용되었다.

*** 시험된 모든 종에 대한 임상전 평균 보정 인자

[0067]

[0068] 표 1에서, 예측된 인간 IV 청소율 값은 1 mg/kg 정맥내(IV) 투약 후 임상전 종(마우스, 래트, 개 및 원숭이)으로부터 수집된 혈장 내 화합물 농도-대-시간 데이터로부터 계산되었다. 혈장 내 화합물의 농도는 LC-MS(액체 크로마토그래피-질량 분광분석법)에 의해 측정되었다. 개별적인 $C_{p/t}$ 곡선(임의의 시간 t 에서 혈장 내 약물의 농도)에 대한 AUC_{inf} 값(시간 0으로부터 무한대로 외삽된 용량 간격에 대한 혈장 농도-시간 곡선하 면적)은 $C_{p/t}$ 곡선의 말단점으로부터의 1차 외삽 및 선형-사다리꼴 적분을 이용해서 결정되었고, 청소율(CL)은 용량/ AUC_{inf} 를 이용해서 계산되었다.

[0069]

예측된 간 청소율(CL_h) 값은 이하의 방정식에서 이용되고 표 2에 나타낸 고유한 청소율(CL_{int}) 및 간 청소율(CL_{hep})을 예측하는데 이용된 물리적 및 생리적 스케일링 인자를 이용해서 간 마이크로솜 내 화합물의 안정성(1 mg/mL; 20분)에 대해서 시험관내 반감기($t_{1/2}$)를 스케일링함으로써 계산되었다:

$$CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

[0070]

[0071] 식 중 D는 간의 질량 당 사이토크롬 P450-관련 단백질의 양이고, W는 동물의 체중 당 존재하는 간의 평균 질량이며, C는 간 마이크로솜 농도이고, 그리고 Q는 종-의존적 간 혈류이다.

표 2

종	W ^a	Q ^b	D ^c
마우스	87.0	90	50
래트	45.0	70	45
토끼	30.8	71	78
개	32.0	35	55
원숭이	32.0	44	60
인간	25.7	20	53

a) W = 동물의 질량(kg)당 간의 평균 질량(g).

b) Q = 평균 간 혈류 (mL/분/kg).

c) D (mic.) = 간의 질량(g) 당 사이토크롬 P450-관련 단백질의 양(mg).

[0072]

[0073] 생체내/시험관내 보정 인자는 이어서 마이크로솜 CL_h 값을 IV CL 값을 나눔으로써 결정되었다. 각 화합물에 대한 임상전 보정 인자의 산술 평균은 측정된 인간 마이크로솜 CL_h로부터의 인간 IV 청소율(CL_h/보정 인자)을 예측하는데 이용되었다.

[0074]

또한, 화합물 1은 예상치 않게, 표 3에 요약되고 도 1 및 도 2에 도시된 바와 같이, 화합물 2 및 3에 비해서 그의 래트 약동학적 곡선에 의해 예시되는 바와 같이 경구 용량 (10 mg/kg) 후에 더 높은 경구 AUC(혈장 약물 농도-시간 곡선하 면적), 더 높은 Cmax(혈장 약물 농도-시간 곡선에서 달성된 최대 농도), 및 더 높은 최저 농도(혈장 약물 농도-시간 곡선에서 달성된 최소 농도)를 달성한다.

표 3

래트 PK 파라미터	화합물 1	화합물 2	화합물 3
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	2.57	0.925	1.06
Cmax ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.06	0.420	0.498
최저 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.00134	0.000446	0.00044

[0075]

[0076]

도 3 및 도 4는 화합물 2에 비해서 래트에서의 10 mg/kg의 경구 용량 투여 후의 화합물 1에 대한 추정된 저해, 그리고 화합물 3에 비해서 화합물 1에 대한 추정된 저해를 각각 예시한다. 도 3 및 도 4에서의 곡선은 이하의 방정식을 이용해서 계산되었다:

$$\text{저해 (\%)} = I_{min} + \frac{I_{max} - I_{min}}{1 + 10^{(\log(I_{C50}) - \log(C)) \cdot n}}$$

[0077]

[0078]

식 중 I_{min} 및 I_{max}는 각각 표적의 최소 및 최대 가능한 저해이고, IC₅₀은 표적이 50%만큼 저해되는 농도이며, C는 저해제의 농도이고, n은 힐 기울기(Hill slope)이다. 도 3 및 도 4에 도시된 바와 같이, TrkA의 추정된 저해는 화합물 2 및 화합물 3에 대한 것보다 화합물 1에 대해서 더 높다.

[0079]

화합물 1의 더 낮은 청소율, 더 높은 AUC, 더 높은 Cmax 및 더 높은 최저 농도는 화합물 2 및 3에 비해서 환자에게 화합물 1의 투여 후 당일 전체에 걸쳐서 TrkA의 더 큰 저해를 야기한다. 이것은 화합물 2 및 3에 비해서

화합물 1에 대해서 더 큰 치료 효능으로 해석된다. 개선된 치료 효능을 달성하는 능력은, 예를 들어, 중간 내지 중증 통증, 소정의 염증성 병태 또는 암(비정상 TrkA 신호전달에 의해 유발된 암을 포함)을 앓고 있는 환자를 치료하는데 중요하다.

[0080] 또한, 화합물 1의 더 낮은 청소율은 화합물 2 및 3에 비해서 투여 후 화합물의 더 긴 반감기를 야기하고, 결과적으로 화합물의 경구, 정맥내 또는 피하 투여 후의 TrkA 수용체의 더욱 지속된 저해를 야기한다. 증가된 반감기는 약물의 더욱 지속적인 효능 및/또는 감소된 투약 빈도를 제공하는 관점에서 유익을 지닌다. 또한, 화합물 1의 더 낮은 인간 청소율 및 더 높은 경우 AUC는, 화합물 2 및 3에 비해서 TrkA 수용체를 효과적으로 저해하고 주어진 치료 효능을 제공하는데 더 낮은 용량의 화합물 1이 요구된다는 점에서 유리하다. 효능을 위하여 요구되는 화합물의 양을 저하시키는 것은 약물 내성, 치료 비용 및 투약 섭생에 의한 환자의 순응도의 개선으로 해석된다.

[0081] 화합물 1은 또한, 표 4에 나타낸 바와 같이, 래트에서의 경구 투여 후에 더 높은 혈장 대 뇌 비에 의해 입증되는 바와 같이, 화합물 2에 비해서 예기치 않게 개선된 말초-대-중추 신경계 분포를 갖는다. 낮은 뇌 노출을 유지하는 것은 중추 신경계 관련 부작용, 예컨대, 인지 혹은 운동 장애와 관련된 부작용의 위험을 감소시키는 유익을 지닌다. 감소된 중추 신경계 노출은 더 적은 혹은 감소된 부작용이 임의의 용량-제한 부작용이 관찰되기 전에 더 큰 치료 효과가 얻어지고/거나 주어진 치료 효과에 대해서 환자에게 더 적은 또는 감소된 부작용이 나타난다는 점에서 유익하다.

[0082] 화합물 1은 또한 표 4에 나타낸 바와 같이 화합물 2에 비해서 hERG(human Ether - α -go-go-Related Gene) 통로에 대한 예기치 않은 감소된 저해 활성을 지닌다. hERG 통로 기능의 저해는 심각한 약물-유도(획득)된 긴 QT 증후군 부작용을 초래할 수 있고, 이는 돌연사의 수반 위험을 발생할 수도 있다. 이 부작용의 심각한 정도 때문에, hERG에 대항하여 감소된 저해 활성을 지니는 것이 고도로 바람직하다.

표 4

	화합물 1	화합물 2
혈장:뇌 비 (래트 PO 10 mg/kg)	21	11
hERG IC ₅₀ (μM)	20	6.9

[0083]

[0084] 화합물 2에 비해서 화합물 1의 위에서 기재된 예기치 않은 특성은 이들 화합물 간의 미소한 구조적 차이로부터 합리적으로 예상될 수는 없었다. 화합물 1 대 화합물 2 간의 유일한 구조 차이는 단일의 플루오린 원자의 제거이다. 그러나, 화합물로부터의 단일의 플루오린 원자의 제거가 화합물 2에 비해서 화합물 1에서 관찰된 예측된 인간 청소율의 개선된 변화를 지니는 화합물을 일반적으로 제공하지 않는다는 것이 당업계에서 입증되어 있었다. 사실상, 더 많은 플루오린 원자를 가진 유사체가 더 적은 플루오린 원자를 가진 그들의 유사체에 비해서 더 낮은 생체내 청소율을 지니는 경향이 있는 것을 입증하는 다른 약물 모티프를 이용한 당업계의 많은 예가 있다(예를 들어, 문헌[Barker, A. J., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11 (2001) 1911-1914; Rosenblum, S. B. et al., *J. Med. Chem.*, 41, (1998) 973-980; Brown, M. F. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 (2004) 2175-2179] 참조). 이와 대조적으로, 모노-플루오로 화합물 1은 다이-플루오로 화합물 2에 비해서 예측된 낮은 인간 청소율을 지닌다. 마찬가지로, 임상전 래트 PK 데이터에 의해서 입증되는 바와 같은 화합물 2에 비해서 화합물 1에 대한 더 높은 Cmax, 더 높은 AUC, 더 높은 저점(trough) 노출 및 더 높은 TrkA 표적 너다운의 약동학(PK) 이점은 상당히 현저하고 이러한 작은 구조 변화에 대해서 예상밖이다.

[0085] 부가적으로, 화합물 1 및 화합물 3에 대한 PK 파라미터의 비교는 화합물 1의 개선된 약동학이 모든 모노-플루오로 유사체에 대해서 일반적인 현상이 아님을 입증한다. 사실상, 화합물 3은, 모노플루오로-치환된 폐닐기를 지님에도 불구하고, 화합물 1에 비해서, Cmax, AUC, 저점 노출 및 TrkA 표적 너다운의 관점에서 더 나쁘게 투영된 인간 청소율 및 열등한 PK값을 입증한다. 화합물 1의 메틸파리미딘일과 모노플루오로-치환된 폐닐 모이어티의 독특한 조합이 위에서 개요된 우수한 특성을 예기치 않게 제공한다.

[0086] 또한 본 명세서에서는 화합물 1의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 특정 염은 염산염이다. 일 실시형

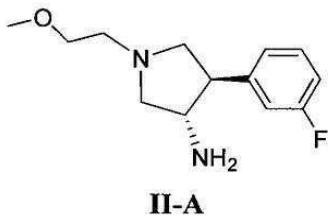
태에 있어서, 본 명세서에서는 화합물 1의 모노염산염이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 화합물 1의 이염산염이 제공된다.

- [0087] 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 화합물 1의 유리 염기 형태가 제공된다.
- [0088] 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 염은 용매화물의 형태로 단리될 수 있고, 따라서 임의의 이러한 용매화물이 본 발명의 범위 내에 포함된다. 예를 들어, 화합물 1 또는 이의 염은 물, 에탄올 등과 같은 약제학적으로 허용 가능한 용매와 비용매화된 형태뿐만 아니라 용매화된 형태로 존재할 수 있다.

[0089] 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 물질 또는 조성물이 제형을 포함하는 다른 성분 및/또는 이에 의해서 치료 중인 포유동물과 화학적으로 및/또는 독성학적으로 양립하는 것을 나타낸다.

[0090] 또한 본 명세서에서는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제조하는 방법이 제공되어, 해당 방법은 하기 단계들을 포함한다:

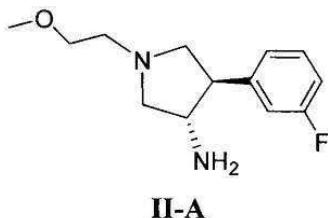
[0091] (a) 카보닐다이아미다졸 또는 트라이포스겐 및 염기의 존재 하에, 하기 화학식 II-A를 가진 화합물을 하기 화학식 III을 가진 화합물과 반응시키는 단계:



- [0092]
- III**

; 또는
- [0093]

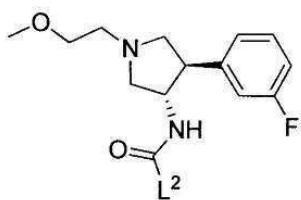
[0094] (b) 염기의 존재 하에, 하기 화학식 II-A를 가진 화합물을 하기 화학식 IV를 가진 화합물과 반응시키는 단계:



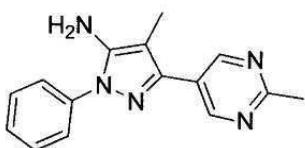
- [0095]
- IV**
- [0096]

[0097] (식 중, L¹은 이탈기임); 또는

[0098] (c) 염기의 존재 하에, 하기 화학식 V를 가진 화합물을 하기 화학식 III을 가진 화합물과 반응시키는 단계:

**V**

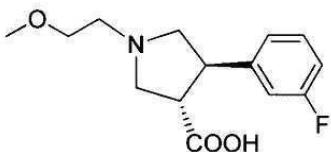
[0099]

[0100] (식 중, L²는 이탈기임)**III**

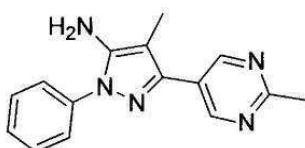
; 또는

[0101]

[0102] (d) 하기 화학식 VI을 가진 화합물을 다이페닐포스포릴 아자이드와 반응시켜 중간생성물을 형성하고, 이어서 염기의 존재 하에 상기 중간생성물을 하기 화학식 III을 가진 화합물과 반응시키는 단계:

**VI**

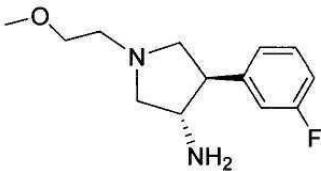
[0103]

**III**

; 또는

[0104]

[0105] (e) 염기의 존재 하에, 하기 화학식 II-A를 가진 화합물을 하기 화학식 VII을 가진 화합물과 반응시키는 단계:

**II-A**

[0106]

**VII**

; 및

[0107]

[0108] 존재할 경우 보호기들을 제거하여, 임의의 그의 약제학적으로 허용 가능한 염을 제조하는 단계.

[0109]

방법 (a)를 참조하면, 염기는 아민 염기, 예를 들어, 트라이에틸아민 또는 디아이소프로필아민일 수 있다. 적

절한 용매는 다이클로로메탄, 다이클로로에탄, THF, DMA 및 DMF를 포함한다. 반응은 편리하게 주위 온도에서 수행된다.

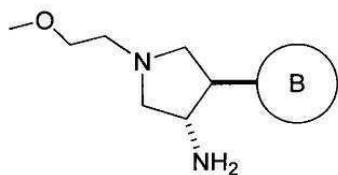
[0110] 방법 (b)을 참조하면, 이탈기는, 예를 들어, 폐녹시 또는 4-나이트로페녹시일 수 있다. 염기는 아민 염기, 예를 들어, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필아민일 수 있다. 적절한 용매는 DMA, DMF 및 DCE를 포함한다. 반응은 편리하게 주위 온도에서 수행된다.

[0111] 방법 (c)을 참조하면, 이탈기는, 예를 들어, 폐녹시 또는 4-나이트로페녹시일 수 있다. 염기는 아민 염기, 예를 들어, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필아민일 수 있다. 적절한 용매는 DCE, DMA 및 DMF를 포함한다. 반응은 편리하게 주위 온도에서 수행된다.

[0112] 방법 (d)을 참조하면, 염기는 아민 염기, 예를 들어, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필아민일 수 있다. 적절한 용매는 툴루엔 및 DMF를 포함한다. 반응은 편리하게 상승된 온도, 예를 들어, 용매의 환류 온도에서 수행된다.

[0113] 방법 (e)을 참조하면, 염기는 아민 염기, 예를 들어, 트라이에틸아민 또는 다이아이소프로필아민일 수 있다. 적절한 용매는 DCM, DCE, DMF 및 THF를 포함한다. 반응은 편리하게 약 0°C 내지 주위 온도 사이의 온도에서 수행된다.

[0114] 또한 본 명세서에서는 하기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물의 제조방법이 제공된다:

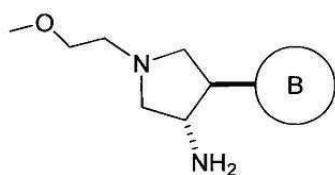


[0115]

식 중, B 고리 및 NH₂ 모이어티는 임체 배치에 있다. 화학식 II의 화합물(예컨대, 화학식 II-A의 화합물)은 화합물 1 등과 같은 TrkA 저해 화합물 등과 같은 화합물을 제조하는데 유용하다.

[0117]

따라서, 본 명세서에서는 하기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물의 제조방법이 제공된다:



[0118]

식 중,

[0120]

고리 B는 Ar¹ 또는 hetAr¹이고;

[0121]

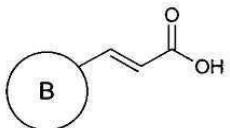
Ar¹은 할로겐, CF₃, CF₃O-, (1-4C)알콕시, 하이드록시(1-4C)알킬, (1-6C)알킬 및 CN으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환체로 임의로 치환된 페닐이며; 그리고

[0122]

hetAr¹은 N, S 및 O로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 고리 헤테로원자를 지니고 그리고 (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 하이드록시(1-2C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된 5 내지 6원 헤테로아릴이며, 상기 방법은,

[0123]

(a) 촉매량의 산의 존재 하에, 하기 화학식 (a)의 화합물:



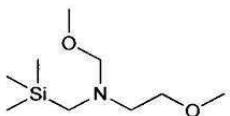
(a)

[0124]

(식 중, 고리 B는 화학식 II에 대해서 정의된 바와 같음)

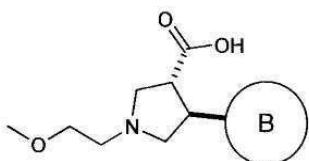
[0126]

을 하기 화학식을 가진 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민:



[0127]

과 반응시켜 하기 화학식 (b)의 화합물을 제공하는 단계:



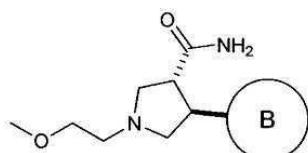
(b)

[0129]

(식 중, 고리 B는 화학식 II에 대해서 정의된 바와 같음);

[0131]

(b) 촉매량의 이미다졸 염산염의 존재 하에, 상기 화학식 (b)의 화합물을 카보닐 다이이미다졸과 반응시키고 나서, 암모니아로 처리하여, 하기 화학식 (c)를 가진 화합물을 제공하는 단계:



(c)

[0132]

(식 중, 고리 B는 화학식 II에 대해서 정의된 바와 같음); 및

[0134]

(c) 상기 화학식 (c)의 화합물을 차아염소산나트륨과 반응시키고 나서 HCl 로 처리하여, 상기 화학식 II의 화합물을 트랜스 화학식 II의 라세미 혼합물로서 제공하는 단계를 포함한다.

[0135]

단계 (a)를 참조하면, 산은 트라이플루오로아세트산과 같은 유기산일 수 있다.

[0136]

상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 할로겐, CF_3 , CF_3O^- , (1-4C)알콕시, 하이드록시(1-4C)알킬, (1-6C)알킬 및 CN 으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환체로 임의로 치환된 페닐이다.

[0137]

상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 할로겐으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환체로 임의로 치환된 페닐이다.

[0138]

상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 1개 이상의 플루오로로 임의로 치환된 페닐이다.

[0139]

상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 3-플루오로페닐이다.

[0140]

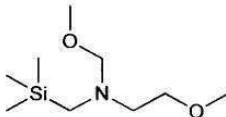
상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 3,4-다이플루오로페닐이다.

[0141] 상기 화학식 II의 화합물을 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 N, S 및 O로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 고리 혼합원자를 지니고 그리고 (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 이드록시(1-2C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된 5 내지 6원 혼합아릴이다.

[0142] 상기 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는, (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 하이드록시(1-2C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된, 피리딜, 티오페닐, 티아졸릴, 옥사졸릴 또는 아이소옥사졸릴 고리이다.

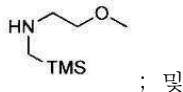
[0143] 상기 화학식 II의 화합물을 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는, 할로겐 및 (1-6C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된, 피리딜, 티오페닐, 티아졸릴, 옥사졸릴 또는 아이소옥사졸릴 고리이다.

[0144] 상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법의 일 실시형태에 있어서, 하기 화학식을 가진 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민은 하기 단계들을 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다:



[0145]

(i) (클로로메틸)트라이메틸실란을 2-메톡시에탄아민과 반응시켜 하기 구조를 가진 (2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민을 제공하는 단계:



[0147]

(ii) 상기 (2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민을 메탄올 중 폼알데하이드로 처리하여 상기 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민을 제공하는 단계.

[0149]

추가로 본 명세서에서는 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 유리 염기로서 또는 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염으로서 단리시키는 방법이 제공되되, 해당 방법은 하기 단계들을 포함한다:

[0150]

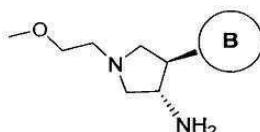
라세미 트랜스 화학식 II를 다이-p-톨루오일-D-타르타르산으로 처리하여 라세미 트랜스 II의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 제공하는 단계;

[0151]

트랜스 II의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 재결정화시켜, 트랜스 II의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 제공하는 단계; 및

[0152]

임의로 트랜스 II의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염을 무기 염기로 처리하여, 하기에 나타낸 바와 같은 절대 입체배치를 가진 트랜스 II의 거울상 이성질체 1의 유리 염기를 제공하는 단계:



II

[0153]

[0154] 일 실시형태에 있어서, 트랜스 II의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염은 화합물, 예컨대, TrkA 저해제 화합물, 예컨대, 화합물 1을 제조하는데 이용된다. 예를 들어, 일 실시형태에 있어서, 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염은 쇼텐-바우만 조건(Shotten-Baumann condition) 하에 화합물, 예컨대, TrkA 저해제 화합물, 예컨대, 화합물 1을 제조하는데 이용되며, 여기서 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1의 다이-p-톨루오일-D-타르타르산염의 유리 염기는 수산화나트륨과 같은 염기의 존재 하에 유기 용매(예컨대, 디이클로로메탄)로 이루어진 2상 용매 하에 생성되고, 화학식 IV를 가진 화합물과 반응한다.

[0155]

일 실시형태에 있어서, 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1의 유리 염기는 화합물, 예컨대, TrkA 저해제 화

합물, 예컨대, 화합물 1을 제조하는데 이용된다.

- [0156] 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 상기 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 할로겐, CF₃, CF₃O-, (1-4C)알콕시, 하이드록시(1-4C)알킬, (1-6C)알킬 및 CN으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환기로 임의의 치환된 페닐이다.
- [0157] 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 상기 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 할로겐으로부터 독립적으로 선택된 1개 이상의 치환체로 임의로 치환된 페닐이다.
- [0158] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 1개 이상의 플루오로로 임의로 치환된 페닐이다.
- [0159] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 3-플루오로페닐이다.
- [0160] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 3,4-다이플루오로페닐이다.
- [0161] 일 실시형태에 있어서, 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법은 (3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0162] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는 N, S 및 O로부터 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 고리 헤테로원자를 지니고 그리고 (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 하이드록시(1-2C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된 5 내지 6원 헤테로아릴이다.
- [0163] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는, (1-6C)알킬, 할로겐, OH, CF₃, NH₂ 및 하이드록시(1-2C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된, 피리딜, 티오페닐, 티아졸릴, 옥사졸릴 또는 아이소옥사졸릴 고리이다.
- [0164] 상기 트랜스 화학식 II의 거울상 이성질체 1을 단리시키기 위한 방법의 일 실시형태에 있어서, 고리 B는, 할로겐 및 (1-6C)알킬로부터 독립적으로 선택된 1 내지 2개의 기로 임의로 치환된, 피리딜, 티오페닐, 티아졸릴, 옥사졸릴 또는 아이소옥사졸릴 고리이다.
- [0165] 상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법은 국제 출원 공개 제WO 2012/158413호에 기재된 방법에 비해서 몇 가지 이점을 제공한다. 예를 들어, WO 2012/158413에 기재된 방법은 벤즈알데하이드 시약과 나이트로메탄 간의 나이트로-알돌 반응을 포함한다. 얻어지는 2-나이트로비닐벤젠 중간생성물은 이어서 고압 하에 수소화에 의해 환원된다. 이들 반응 단계는 둘 다, 나이트로-알돌 반응 및 이로부터 유도된 나이트로 중간생성물이 불안정하고 위험할 수 있으므로, 대규모로 합성하기 쉽지 않다. 이와 대조적으로, 상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법은 임의의 고도로 유해한 화학을 이용하지 않고 나이트로-함유 중간생성물 및 수소첨가를 회피한다. 또한, 상기 화학식 II의 화합물의 라세미 혼합물을 제조하는 방법에서 이용되는 모든 조건은 대규모 합성을 위한 파일럿 공장에서 전형적으로 발현되는 표준 작동 파라미터 이내이며, 예컨대, 상기 방법은 극도의 온도를 사용하지 않고 고압 용기를 필요로 하지 않는다.
- [0166] TrkA 저해제로서 작용하는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 능력은 실시예 A 및 B에 기재된 검정에서 입증될 수 있다.
- [0167] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 통증, 암, 염증/염증성 질환, 신경변성 질환, 소정의 감염성 질환, 쇼그伦 증후군, 자궁내막증, 당뇨병성 말초 신경병증, 전립선염, 골반 통증 증후군, 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환, 및 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아닌 질환 및 장애에서 유용하다.
- [0168] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 용어 "치료하다" 또는 "치료"란 치료적 또는 일시적 대책을 지칭한다. 유익한 또는 목적으로 하는 임상 결과는, 검출가능하든 혹은 검출불가능하든 간에, 장애 혹은 병태와 연관된 증후군의 전체적인 혹은 부분적인 완화, 질환 정도의 감소, 질환의 안정화된(즉, 악화가 아닌) 상태, 질환 진행의 지연 혹은 느려짐, 질환 상태의 완화 혹은 일시적 완화, 및 재발(부분적이든 혹은 전체적이든)을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. "치료"는 또한 치료를 받지 않는다면 예상되는 생존에 비해서 연장된 생존을 의미

할 수 있다.

[0169] 소정의 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 본 명세서에 정의된 바와 같은 질환 및 장애를 예방하는데 유용하다. 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 용어 "예방하는"은 본 명세서에 기재된 바와 같은 질환 혹은 병태 또는 그의 증상의, 전체적인 혹은 부분적인, 발병, 재발 혹은 확산의 예방을 의미하고, 증상의 발병 전에 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 투여를 포함한다.

[0170] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 동일 또는 상이한 작용 기전에 의해서 작용하는 1종 이상의 추가의 치료제와 병용하여 이용될 수 있다.

[0171] 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 용어 "약제학적 병용"이란 1종 이상의 활성 성분의 혼합 또는 배합으로부터 얻어지는 약제학적 요법을 지칭하며, 활성 성분의 고정 병용 및 비고정(non-fixed) 병용 둘 다를 포함한다. 용어 "고정 병용"은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 적어도 1종의 추가의 치료제가 둘 다 단일체 또는 투약량의 형태로 동시에 환자에게 투여되는 것을 의미한다. 용어 "비고정 병용"은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 및 적어도 1종의 추가의 치료제가 가변적인 중재 시간 제한으로 동시에 또는 순차적으로 개별의 실체로서 환자에게 투여되는 것을 의미하며, 이때 이러한 투여는 환자의 신체 내에서 유효 수준의 2종 이상의 화합물을 제공한다. 이들은 또한 각테일 요법, 예컨대, 3종 이상의 활성 성분의 투여에 적용된다.

[0172] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 용어 "공동 투여하는"은 단일 환자에게 선택된 치료제의 투여를 포괄하는 것을 의미하며, 제제들이 동일 또는 상이한 투여 경로에 의해 또는 동일 또는 상이한 시기에 투여되는 치료 요법을 포함하도록 의도된다. 이 용어는 두 제제 및/또는 그들의 대사산물이 동시에 포유동물에 존재하도록 포유동물에게 2종 이상의 제제의 투여를 포괄한다. 이것은 개별의 조성물의 동시 투여, 개별의 조성물의 상이한 시기에서의 투여 및/또는 두 제제가 존재하는 조성물로의 투여를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명의 화합물(들) 및 다른 치료제(들)는 단일 조성물로 투여된다. 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 기타 제제(들)가 조성물에 혼합된다.

[0173] 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 만성 및 급성 통증을 포함하는 통증을 치료하는데 유용하다. 예를 들어, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 염증성 통증, 신경병증 통증, 요통, 및 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절을 포함하는 다수 종류의 통증의 치료에서 유용하다.

[0174] 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 급성 통증을 치료하는데 유용하다. 국제 통증 연구 학회에 의해 정의된 바와 같이, 급성 통증은, 질환, 염증, 또는 조직에 대한 손상에 기인한다. 이런 유형의 통증은 일반적으로, 예를 들어, 회상 또는 수술 후에 갑자기 생기고, 불안 또는 스트레스에 의해 동반될 수 있고, 그리고 주어진 시간 기간 및 중증도로 국한된다. 몇몇 경우에, 이것은 만성으로 된다.

[0175] 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 만성 통증을 치료하는데 유용하다. 국제 통증 연구 학회에서 정의된 바와 같은 만성 통증은, 자체로 질환을 나타내는 것으로 광범위하게 여겨지고 있다. 이것은 환경적 및 생리학적 인자에 의해 더욱 악화될 수 있다. 만성 통증은 급성 통증보다 더 장기간에 걸쳐서 지속되고, 일반적으로 3개월 이상에 걸쳐서 최대의 의약적 치료에 대한 내성이 있다. 이것은 환자에 대해서 심각한 문제를 초래할 수 있고 흔히 초래한다.

[0176] 따라서, 본 명세서에서는 포유동물에서 통증을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 상기 통증을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 통증의 치료를 필요로 하는 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 급성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 요통이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 신경병증 통증, 예컨대, 당뇨병성 말초 신경병증 연관 통증 또는 비당뇨병성(예컨대, 화학요법 유도) 말초 신경병증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 염증성 통증, 예컨대, 골관절염 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 암 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 수술 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 뼈 골절 연관 통증이다.

[0177] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 통증을 예방하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 상기 통증을 예방하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 통증의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 급성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 요통이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 신경병증 통증, 예컨대, 당뇨병성 말초 신경병증 연관 통증 또는 비당뇨병성(예컨대, 화학요법 유도) 말초 신경병증이다. 일 실시형태에

있어서, 통증은 염증성 통증, 예컨대, 골관절염 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 암 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 수술 연관 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 뼈 골절 연관 통증이다.

[0178] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 통증을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은, 유효량의: (a) 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염; 및 (b) 항염증 화합물, 스테로이드(예컨대, 텍사메타손, 코르티손 및 플루티카손), 진통제, 예를 들어, NSAID(예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 인도메타신 및 케토프로펜), 아편유사제(예를 들어, 몰핀), 칼시토닌 유전자-관련 웹타이드 수용체 길항제, 아형-선택적 이온 통로 조절제, 항경련제(예를 들어 프레가발린 및 가바펜틴), 이중 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 저해제(예를 들어 둘록세틴, 벤라팍신 및 밀나시프란), JAK 패밀리 키나제 저해제(예컨대, 룩솔리티닙 또는 토파시티닙), 및 삼환식 항우울제(예컨대, 아미트립틸린, 노르트립틸린 및 데시프라민)로부터 선택된 적어도 1종의 추가의 치료제를 통증의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 공동 투여하는 단계를 포함한다. 이를 추가의 치료제는, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 함께, 당업자에게 공지된 표준 약제학적 관행에 따라서 동일 또는 별개의 투약 형태의 일부로서, 동일 또는 상이한 투여 경로를 통해서 그리고 동일 또는 상이한 투여 스케줄로 투여될 수 있다.

[0179] 따라서, 또한 본 명세서에서는, 포유동물에서 통증의 치료에 이용하기 위한, 유효량의: (a) 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 (b) 항염증 화합물, 스테로이드(예컨대, 텍사메타손, 코르티손 및 플루티카손), 진통제, 예를 들어, NSAID(예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 인도메타신 및 케토프로펜), 및 아편유사제(예컨대, 몰핀)로부터 선택된 적어도 1종의 추가의 치료제를 포함하는 약제학적 병용물이 제공되며, 여기서 (a) 및 (b)는 개별의 투약 형태 또는 동일 투약 형태일 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 (a) 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염 및 (b) 유효량의 진통제, 예컨대 NSAID(예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 인도메타신 및 케토프로펜)를 포함하는 약제학적 병용물이 제공된다.

[0180] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 또한 암을 치료하는데 유용하다. 특정 예는 신경아세포종, 난소암, 췌장암, 결장직장암 및 전립선암을 포함한다.

[0181] 따라서, 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은, 상기 암을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 암의 치료를 필요로 하는 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0182] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 또한 TrkA의 조절장애를 지닌 암을 치료하는데 유용하다.

[0183] 따라서, 또한 본 명세서에서는 TrkA의 조절장애를 지닌 암으로 진단된 환자를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은, 치료적 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0184] 일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 야생형 TrkA의 과발현(자가분비/측 분비 활성화)을 포함한다.

[0185] 일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 유전자 증폭, 또는 TrkA 유전자 융합을 초래하는 하나 이상의 염색체 전좌 또는 역전을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 조절장애는 유전자 전좌의 결과이며, 이때 발현된 단백질은 비-TrkA 및 TrkA 단백질, 및 최소한도의 TrkA 키나제 도메인으로부터의 융합 단백질 함유 잔기이다. 일 실시형태에 있어서, TrkA 융합 단백질은 LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, 또는 TPR-TrkA이다. 일 실시형태에 있어서 TrkA 융합 단백질은 LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPRIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAP1L-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA, 또는 TPR-TrkA이되, 여기서:

LMNA	=	프레라민(Prelamin)-A/C;
TFG	=	TRK-융합 유전자 단백질;
TPM3	=	트로포마이신 알파-3;
CD74	=	HLA 클래스 II 조직적합성 항원 감마쇄;
NFASC	=	뉴로파스신(Neurofascin);
MPRIP	=	MPRIP 단백질;
BCAN	=	브레비칸 코어 단백질; 및
TP53	=	세포 종양 항원 p53
RNF213	=	E3 유비퀴틴-단백질 리가제 RNF213
RABGAP1L	=	Rab GTPase-활성화 단백질 1-유사
IRF2BP2	=	인터페론 조절 인자 2-결합 단백질 2
SQSTM1	=	세퀘스토솜-1(Sequestosome-1)
SSBP2	=	단일-가닥 DNA-결합 단백질 2
TPR	=	핵단백질 TPR

[0186]

[0187] 일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 TrkA 단백질 내 하나 이상의 결실, 삽입 또는 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 조절장애는 TrkA 단백질로부터의 1개 이상의 잔기의 결실을 포함하며, 이는 TrkA 키나제의 구성적 활성(constitutive activity)을 유발한다. 일 실시형태에 있어서, 결실은 TrkA 아이소형태 2에서의 303 내지 377번 잔기의 결실을 포함한다.

[0188]

일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 발현된 단백질이 TrkA 키나제의 구성적 활성을 초래하는 1개 이상의 잔기 결실을 가진 TrkA의 대체 접합 변이체인 스플라이스 변이(splice variation)를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 구성적 활성을 지닌 TrkA의 대체 접합 형태는 TrkA 아이소형태 2에 비해서 192 내지 284 및 393 내지 398번 잔기를 손실하는 발현 단백질을 초래하는 엑손 8, 9 및 11의 결실을 갖는다.

[0189]

TrkA의 조절장애를 가진 것으로 동정된 암(하기 문헌 자료 참조; 또한 www.cancer.gov 및 www.nccn.org 참조)은 하기를 포함한다:

[0190]

(A) TrkA의 조절장애가 유전자 증폭 또는 TrkA 유전자 융합을 초래하는 하나 이상의 염색체 전좌 또는 역전 또는 유전자 증폭을 포함하고 그리고 하기 표에 기재된 것들을 포함하는 암:

암	문헌 참조(들)	치료기준
비소세포 폐암	Vaishnavi et al., <i>Nature Medicine</i> , 19, 1469-1472 (2013)	방사선 요법(예컨대, 방사성요오드 요법, 외부-빔 방사선, 라듐 223 요법), 단일 제제로서의 화학요법제(예컨대, 아파티닙 다이말래에이트, 베바시주맙, 카보플라틴, 세톡시맙, 시스플라틴, 크리조티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 젠시타빈, 메토트렉세이트, 파클리탁셀, 페메트렉세드) 또는 조합물(예컨대, 카보플라틴-파클리탁셀, 젠시타빈-파클리탁셀, 화학방사선)
유두상 갑상선 암종	Caria P., et al., <i>Cancer Genetics and Cytogenetics</i> , 203:21-29 (2010)	방사선 요법(예컨대, 방사성요오드 요법, 외부-빔 방사선) 및 화학요법제(예컨대, 소라페닙, 수니티닙, 파조파닙)
다형성 교아세포종	Frattini, V. et al., <i>Nature Genet.</i> , 45(10):1141-1149 (2013)	화학요법제(예컨대, 베바시주맙, 에버롤리무스, 로무스틴, 테모졸로마이드)
결장직장 암종	Martin-Zanca, D. et al., <i>Nature</i> , 319:743-748 (1986)	단일 제제로서의 화학요법제(아플리베르셉트, 베바시주맙, 카페시타빈 세톡시맙, 플루오로유라실, 이리노테칸, 류코보린, 옥살리플라틴, 파니투무맙, 레고라페닙) 또는 조합물(예컨대, 폴폭스, 폴피리, 카폭스, 폴피리-베바시주맙, 폴피리-세톡시맙, 젤록스)
흑색종	WO 2013/059740 A1	화학요법제(예컨대, 알데스류킨, 다브라페닙, 다카바진, 인터페론 알파-2b, 이플리무맙, 페그인터페론 알파-2b, 트라메티닙, 베무라페닙)
담관암종	Ross, J. S. et al., <i>Oncologist</i> , 19, 235-242 (2014)	화학요법제(예컨대, 젠시타빈/시스플라틴, 플루오로피리미дин)
육종	Stransky, N. et al., <i>Nat. Comm.</i> , Sept. 2014, 1-10	방사선 요법, 화학요법제(예컨대, 독소루비신, 이포스파마이드, 에피루비신, 젠시타빈, 다카바진, 테모졸로마이드, 비노렐빈, 파조파닙)

[0191]

(B) TrkA의 조절장애가 TrkA 단백질 내에 하나 이상의 결실, 삽입 또는 돌연변이를 포함하고 하기 표에 기재된 것들을 포함하는 암:

암	문헌 참조(들)	치료기준
급성 골수성 백혈병	Meyer, J. et al., <i>Leukemia</i> 21: 2171-2180 (2007); Reuther et al., <i>Mol. Cell Biol.</i> 20:8655-8666 (2000)	단일 제제로서의 화학요법제(예컨대, 삼산화비소, 사이클로포스파마이드, 시타라빈, 다우노루비신, 독소루비신, 빙크리스틴) 또는 조합물(예컨대, ADE)
대세포 신경내분비 암종	Marchetti et al., <i>Human Mutation</i> 29(5): 609-616 (2008)	방사선 요법(예컨대, 방사성요오드 요법, 외부-빔 방사선, 라듐 223 요법) 및/또는 화학요법제(예컨대, 시스플라틴, 카보플라틴, 에토포사이드)
신경아세포종	Tacconi et al., <i>Cancer Cell</i> 6: 347-360 (2004)	화학요법제(예컨대, 사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빙크리스틴)

[0193]

[0194]

(C) 암생형 TrkA의 과발현(자가분비 활성화)에 의해 유발되고 하기 표에 기재된 것들을 포함하는 암:

암	문헌 참조(들)	치료기준
전립선 암종	Walch, E.T., et al., <i>Clinical & Experimental Metastasis</i> 17: 307-314 (1999); Papatsoris, A. G., et al., <i>Expert Opinion on Investigational Drugs</i> 16(3): 303-309 (2007)	방사선 요법 (예컨대, 라듐 223 요법) 또는 화학요법제 (예컨대, 아비라테론, 카바지탁셀, 데가렐릭스, 데노수맙, 도세탁셀, 엔잘루타마이드, 류프롤라이드, 프레드니손, 시풀류셀-T)
신경아세포종	Van Noesel, M.M. et al., <i>Gene</i> 325: 1-15 (2004)	화학요법제 (예컨대, 사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴)
췌장암종	Zhang, Y., et al., <i>Oncology Reports</i> 14: 161-171 (2005)	단일 제제로서의 화학요법제 (예컨대, 에를로티닙, 플루오로유라실, 젬시타빈, 미토마이신 C) 또는 조합물(예컨대, 젬시타빈-옥살리플라틴)
흑색종	Truzzi, F., et al., <i>Journal of Investigative Dermatology</i> 128(8): 2031-2040 (2008)	화학요법제 (예컨대, 알데스류킨, 다브라페닙, 다카바진, 인터페론 알파- 2b, 이플리무맙, 페그인터페론 알파-2b, 트라메티닙, 베무라페닙)
두경부 편평세포 암종	Kolokythas, D., et al., <i>Journal of Oral and Maxillofacial Surgery</i> 68(6):1290-1295 (2010)	방사선 요법 및/또는 화학요법제 (예컨대, 블레오마이신, 세툭시맙, 시스플라틴, 도세탁셀, 플루오로유라실, 메토트렉세이트)
위 암종	Ni, S-Z., et al., <i>Asian Pacific Journal of Cancer Prevention</i> 13: 1511-1514 (2012)	화학요법제 (예컨대, 도세탁셀, 독소루비신, 플루오로유라실, 미토마이신 C, 트拉斯투주맙)

[0195]

[0196]

일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 TrkA의 조절장애를 지닌 암으로 진단된 환자를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 상기 암을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 암은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성 교아세포종, 급성 골수성 백혈병, 결장직장 암종, 대세포 신경내분비 암종, 전립선암, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종 및 위 암종으로부터 선택된다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 TrkA의 조절장애를 지닌 암으로 진단된 환자를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 상기 암을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 암은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성 교아세포종, 급성 골수성 백혈병, 결장직장 암종, 대세포 신경내분비 암종, 전립선암, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종, 위 암종, 담관암종 및 육종으로부터 선택된다.

[0197]

또한 암의 치료를 필요로 하는 포유동물에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 (a) 암이 TrkA 키나제의 조절장애와 연관되는지의 여부를 판정하는 단계; 및 (b) 상기 암이 TrkA 키나제의 조절장애와 연관되는 것으로 판정된 경우, 치료적 유효량의 치료적 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 화합물 1은 이염산염이다.

[0198]

일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 TrkA 유전자 융합을 초래하는 하나 이상의 염색체 전좌 또는 역전을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, TrkA 유전자 융합은 LMNA-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, CD74-TrkA, NFASC-TrkA, MPPIP-TrkA, BCAN-TrkA, TP53-TrkA, RNF213-TrkA, RABGAP1L-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA, 또는 TPR-TrkA이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성

교아세포종, 결장직장 암종, 흑색종, 담관암종, 또는 육종이다.

[0199] 일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 TrkA 단백질에서 하나 이상의 결실, 삽입 또는 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 암은 급성 골수성 백혈병, 대세포 신경내분비 암종 또는 신경아세포종이다.

[0200] 일 실시형태에 있어서, TrkA의 조절장애는 야생형 TrkA의 과발현(자가분비 활성화)이다. 일 실시형태에 있어서, 암은 전립선 암종, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종, 또는 위 암종이다.

[0201] 일 실시형태에 있어서, 암의 치료를 필요로 하는 포유동물에서 암을 치료하는 상기 방법들 중 어느 것인가는, 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 1종 이상의 추가의 요법 또는 화학요법제로부터 선택된 유효량의 적어도 1종의 추가의 치료제와 병용하여 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0202] 일 실시형태에 있어서, 암의 치료를 필요로 하는 포유동물에서 암을 치료하는 상기 방법들 중 어느 것인가는 유효량의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 1종 이상의 추가의 화학요법제와 병용하여 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0203] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 카보잔티닙, 크리조티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 이마티닙, 라파티닙, 널로티닙, 파조파닙, 퍼투주맙, 레고라페닙, 수니티닙 및 트라스투주맙을 포함하는 수용체 티로신 키나제-표적화 치료제로부터 선택된다.

[0204] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 Ras-Raf-MEK-ERK 경로 저해제(예컨대, 비니메티닙, 셀루메티닙, 엔코라피닙, 소라페닙, 트라메티닙, 베무라페닙), PI3K-Akt-mTOR-S6K 경로 저해제(예컨대, 에버롤리무스, 라파마이신, 페리포신, 템시룰리무스) 및 세포자멸사 경로의 조절제(예컨대, 오바타클락스)를 포함하는 신호 전달 경로 저해제로부터 선택된다.

[0205] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 삼산화비소, 블레오마이신, 카바지탁셀, 카페시타빈 카보플라틴, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 시타라빈, 다카바진, 다우노루비신, 도세탁셀, 독소루비신, 에토포사이드, 플루오로유라실, 쟈시타빈, 이리노테칸, 로무스틴, 메토트렉세이트, 미토마이신 C, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 폐메트렉세드, 테모졸로마이드 및 빙크리스틴을 포함하는 세포독성 화학요법제로부터 선택된다.

[0206] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 아플리베르셉트 및 베바시주맙을 포함하는 신생혈관생성-표적화 요법제로부터 선택된다.

[0207] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 알데스류킨, 이플리무맙, 람브롤리주맙, 니볼루맙, 시풀류셀-T를 포함하는 면역-표적화 제제로부터 선택된다.

[0208] 일 실시형태에 있어서, 추가의 화학요법제(들)는 NGF 항체, 및 panTrk 저해제 등과 같은 NGF-표적화 생물약제를 포함하는, TrkA 경로에 대한 활성화 제제로부터 선택된다.

[0209] 일 실시형태에 있어서, 추가의 치료제 또는 요법은 방사성요오드 요법, 외부-빔 방사선 및 라듐 223 요법을 포함하는 방사선 요법이다.

[0210] 일 실시형태에 있어서, 추가의 치료제(들)는 암에서의 표준 치료인 위에서 열거된 요법 또는 치료제 중 임의의 하나를 포함하며, 여기서 암은 TrkA의 조절장애를 지닌다.

[0211] 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 암의 치료를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을, 방사선 요법(예컨대, 방사성요오드 요법, 외부-빔 방사선, 라듐 223 요법), 세포독성 화학요법제(예컨대, 삼산화비소, 블레오마이신, 카바지탁셀, 카페시타빈 카보플라틴, 시스플라틴, 사이클로포스파마이드, 시타라빈, 다카바진, 다우노루비신, 도세탁셀, 독소루비신, 에토포사이드, 플루오로유라실, 쟈시타빈, 이리노테칸, 로무스틴, 메토트렉세이트, 미토마이신 C, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 폐메트렉세드, 테모졸로마이드, 빙크리스틴), 티로신 키나제 표적화-요법제(예컨대, 아파티닙, 카보잔티닙, 세툭시맙, 크리조티닙, 다브라페닙, 에를로티닙, 게피티닙, 이마티닙, 라파티닙, 널로티닙, 파조파닙, 파니투무맙, 퍼투주맙, 레고라페닙, 수니티닙, 트라스투주맙), 세포자멸사 조절제 및 신호 전달 저해제(예컨대, 에버롤리무스, 페리포신, 라파마이신, 비니메티닙, 셀루메티닙, 엔코라피닙, 소라페닙, 템시룰리무스, 트라메티닙, 베무라페닙), 면역-표적화 요법(예컨대, 알데스류킨, 인터페론 알파-2b, 이플리무맙, 람브롤리주맙, 니볼루맙, 프레드니손, 시풀류셀-T) 및 신생혈관생성-표적화 요법제(예컨대, 아플리베르셉트, 베바시주맙)로부터 선택된 적어도 1종의 추가의 요법 또는 화학요법제와 병용하여, 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 여기서 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 양은, 추가의 요법 또는 치료제와

병용하여, 상기 암을 치료하는데 효과적이다. 이들 추가의 치료제는, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 함께, 당업자에게 공지된 표준 약제학적 관행에 따라서 동일 또는 별개의 투약 형태의 일부로서, 동일 또는 상이한 투여 경로를 통해서 그리고 동일 또는 상이한 투여 스케줄로 투여될 수 있다.

[0212] 또한 본 명세서에서는 (i) 암의 치료를 위하여 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위하여 (a) 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, (b) 추가의 치료제 및 (c) 임의로 적어도 1종의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 암의 치료를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하기 위한 약제학적 병용물(여기서 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 양 및 추가의 치료제의 양은 함께 상기 암을 치료하는데 유효함); (ii) 이러한 병용물을 포함하는 약제학적 조성물; (iii) 암의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 이러한 병용물의 용도; 및 (iv) 동시, 개별 또는 순차적 사용을 위한 배합된 제제로서 이러한 병용물을 포함하는 상업적 패키지 또는 제품; 그리고 암의 치료를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

[0213] 일 실시형태에 있어서, 병용 요법은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성 교아세포종, 급성 골수성 백혈병, 결장직장 암종, 대세포 신경내분비 암종, 전립선암, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종 및 위 암종으로부터 선택된 암을 치료하기 위한 것이다. 일 실시형태에 있어서, 병용 요법은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성 교아세포종, 급성 골수성 백혈병, 결장직장 암종, 대세포 신경내분비 암종, 전립선암, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종, 위 암종, 담관암종 및 육종으로부터 선택된 암을 치료하기 위한 것이다.

[0214] 화합물 1, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 또한 염증 또는 염증성 질환 또는 장애를 치료하는데 유용하다.

[0215] 따라서, 본 명세서에서는 포유동물에서 염증 또는 감염성 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 상기 포유동물에게 상기 염증을 치료하는 데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 염증성 질환은 염증성 폐질환(예컨대, 천식), 간질성 방광염(IC), 통증성 방광 증후군(PBS), 염증성 장 질환(궤양성 결장염 및 크론병을 포함), 및 염증성 피부 질환, 예컨대, 아토피 피부염 및 건선으로부터 선택된다.

[0216] 일 실시형태에 있어서, 염증 또는 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 1종 이상의 추가의 제제와 병용하여 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 추가의 제제의 예는 항-TNF 제제(예를 들어 단클론성 항체, 예컨대, 인플릭시맙(레미카데(Remicade)), 아달리무맙(휴미라(Humira)), 세르톨리주맙 폐골(심지아(Cimzia)), 및 골리무맙(심포니(Simponi)), 또는 순환 수용체 융합 단백질, 예컨대, 에타네르셉트(엔브렐(Enbrel)), 항대사물질 및 항엽산 약물(예를 들어 메토트렉세이트), 또는 표적화된 키나제 저해제(예를 들어 JAK 패밀리 저해제, 예컨대, 톡솔리티닙, 토파시티닙, CYT387, 레스타우르티닙, 파크리티닙 및 TG101348)를 포함한다. 이들 추가의 치료제는, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 함께, 당업자에게 공지된 표준 약제학적 관행에 따라서 동일 또는 별개의 투약 형태의 일부로서, 동일 또는 상이한 투여 경로를 통해서 그리고 동일 또는 상이한 투여 스케줄로 투여될 수 있다.

[0217] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 또한 포유동물에서 신경변성 질환을 치료하는데 유용하다. 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 또한 Sp35-TrkA 상호작용 차단을 통해서 수초형성, 신경세포 생존 및 희소돌기아교세포 분화를 촉진시킴으로써 탈수초 및 수초형성부전을 치료하는데 이용될 수 있다.

[0218] 따라서, 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 신경변성 질환을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 상기 포유동물에게 상기 신경변성 질환을 치료하는 데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 신경변성 질환은 다발성 경화증이다. 일 실시형태에 있어서, 신경변성 질환은 파킨슨병이다. 일 실시형태에 있어서, 신경변성 질환은 알츠하이머병이다.

[0219] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 트라파노소마 크루지(Trypanosoma cruzi) 감염과 같은 소정의 감염성 질환을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 이러한 치료를 필요로 하는 상기 포유동물에게 상기 트라파노소마 크루지 감염을 치료하는 데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.

[0220] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 쇼그伦 증후군을 치료하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 이러한 치료를 필

요로 하는 상기 포유동물에게 상기 증후군을 치료하는 데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함한다.

[0221] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 자궁내막증을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 자궁내막증을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0222] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 당뇨병성 말초 신경병증을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 당뇨병성 말초 신경병증을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0223] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 전립선염을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 전립선염을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0224] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 골반 통증 증후군을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 골반 통증 증후군을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0225] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 질환을 치료하는데 유효한 양으로 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 질환은 골다공증, 류마티스 관절염, 또는 골전이이다.

[0226] 일 실시형태에 있어서, 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환의 치료를 필요로 하는 포유동물에서 이러한 질환을 치료하는 방법은, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 1종 이상의 추가의 치료제 또는 요법과 병용하여 투여하는 단계를 포함한다. 추가의 치료제 또는 요법의 예는 항-TNF 치료제(예를 들어 단클론성 항체, 예컨대, 인플릭시맙(레미카데), 아달리무맙(휴미라), 세르톨리주맙 페골(심지아) 및 골리무맙(심포니), 또는 순환 수용체 용합 단백질, 예컨대, 에타네르셉트(엔브렐), 항대사물질 및 항엽산 약물(예를 들어 메토트렉세이트), 또는 표적화된 키나제 저해제(예를 들어 JAK 패밀리 저해제, 예컨대, 룩솔리티닙, 토파시티닙, CYT387, 레스타우르티닙, 파크리티닙 및 TG101348)를 포함한다. 이들 추가의 치료제는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 함께, 당업자에게 공지된 표준 약제학적 관행에 따라서 동일 또는 별개의 투약 형태의 일부로서, 동일 또는 상이한 투여 경로를 통해서 그리고 동일 또는 상이한 투여 스케줄로 투여 될 수 있다.

[0227] 또한 본 명세서에서는 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료를 필요로 하는 포유동물에서 이러한 질환을 치료하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 상기 질환을 치료하는 데 유효한 양으로 상기 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 상기 포유동물에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환은 레이노드 증후군, 특발성 폐 섬유증, 반흔(비대성, 켈로이드 등), 간경병증, 심내막심근 섬유증, 심방성 섬유증, 골수섬유증, 진행성 괴상 섬유증(폐), 신원성 전신 섬유증, 피부경화증, 전신 경화증, 관절섬유증 또는 안구 섬유증이다.

[0228] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "유효량"은, 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여될 경우, (i) 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염으로 치료될 수 있는 특정 질환, 병태 또는 장애를 치료하는데, 또는 (ii) 본 명세서에 기재된 상기 특정 질환, 병태 혹은 장애의 하나 이상의 증상을 약화, 개선 또는 제거하는데 충분한 화합물의 양을 의미한다. 이러한 양에 상당하는 화합물 1의 양은 질환 상태 및 그의 중증도, 그리고 치료를 필요로 하는 포유동물의 신원(예컨대, 체중) 등과 같은 인자에 따라서 변할 것이지만, 그럼에도 불구하고 당업자에 의해 통상적으로 결정될 수 있다.

[0229] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 용어 "포유동물"은 본 명세서에 기재된 질환을 지니거나 이를 발병시킬 위험이 있는 온혈 동물을 지칭하며, 그 예로는 기니픽, 개, 고양이, 래트, 마우스, 햄스터, 및 인간을 포함하는 영장류를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0230] 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은, 임의의 통상의 경로에 의해, 예컨대, 위장관(예컨대, 직장 혹은 경구), 코, 폐, 근육계 혹은 혈관계, 상처 관주, 또는 경피 혹은 피부로 투여될 수 있다. 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염은 임의의 통상의 투여 형태, 예를 들어, 정제, 분말, 캡슐, 용액, 분산제, 혼탁제, 시럽, 스프레이, 좌제, 젤, 에멀전, 패취 등으로 투여될 수 있다. 이러한 조성물은 약제학적 제제에서

통상적인 성분, 예컨대, 희석제, 담체, pH 조절제, 감미제, 증량제, 및 추가의 활성제를 함유할 수 있다. 비경구 투여가 요망될 경우, 조성물은 멸균성이고 주사 혹은 주입에 적합한 용액 혹은 혼탁 형태일 것이다. 이러한 조성물은 본 발명의 추가의 양상을 형성한다.

[0231] 다른 제형은 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 담체 혹은 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 적절한 담체 및 부형제는 당업자에게 잘 알려져 있다. 제형은 또한 1종 이상의 완충제, 안정제, 계면활성제, 습윤제, 윤활제, 유화제, 혼탁제, 방부제, 산화방지제, 오페이킹제(opaque agent), 활주제(glidant), 가공 조제, 착색제, 감미제, 방향제, 착향제, 희석제 및 약물(본 명세서에 기재된 화합물 혹은 이의 약제학적 조성물)의 품위 제시를 제공하거나 약제학적 제품(즉, 약제)의 제조를 돋는 기타 공지된 첨가제를 포함할 수 있다.

[0232] 따라서, 또한 본 명세서에서는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물은 경구 투여용으로 제형화된다. 일 실시형태에 있어서, 경구 투여용으로 제형화된 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물은 정제 또는 캡슐의 형태이다.

[0233] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 통증의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 통증이다. 일 실시형태에 있어서 통증은 급성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 요통, 염증성 통증, 신경병증 통증 또는 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절이다.

[0234] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 암의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 암은 비소세포 폐암, 유두상 갑상선 암종, 다형성 교아세포종, 급성 골수성 백혈병, 결장직장 암종, 대세포 신경내분비 암종, 전립선암, 신경아세포종, 췌장암종, 흑색종, 두경부 편평세포 암종, 위 암종, 담관암종 및 육종으로부터 선택된다.

[0235] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 염증 또는 염증성 질환 또는 장애의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 염증성 질환은 염증성 폐 질환(예컨대, 천식), 간질성 방광염, 방광 통증 증후군, 염증성 장 질환(궤양성 결장염 및 크론병을 포함함), 및 염증성 피부 질환, 예컨대, 아토피 피부염이다.

[0236] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 감염성 질환, 예를 들어, 트라파노소마 크루지 감염의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0237] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 쇼그伦 증후군의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0238] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 자궁내막증의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0239] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 당뇨병성 말초 신경병증의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0240] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 전립선염의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0241] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 골반 통증 증후군의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0242] 또한 본 명세서에서는 포유동물에서 신경변성 질환의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0243] 또한 본 명세서에서는 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0244] 또한 본 명세서에서는 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환의 치료에 이용하기 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 제공된다.

[0245]

또한 본 명세서에서는 통증, 암, 염증, 신경변성 질환, 트라파노소마 크루지 감염 및 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환으로부터 선택된 병태의 치료를 위한 약제의 제조에서의 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 용도가 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 상기 병태는 만성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 급성 통증이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 만성 요통이다. 일 실시형태에 있어서, 통증은 염증성 통증, 신경병증 통증, 또는 암 연관 통증, 수술 또는 뼈 골절이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 암이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 염증이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 신경변성 질환이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 트라파노소마 크루지 감염이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 쇼그렌 증후군이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 자궁내막증이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 당뇨병성 말초 신경병증이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 전립선염이다. 일 실시형태에 있어서, 병태는 골반 통증 증후군이다. 일 실시형태에 있어서, 질환은 골 리모델링의 조절의 불균형과 관련된 질환이다. 일 실시형태에 있어서, 질환은 결합조직 성장인자 이상 신호전달에 기인된 질환이다.

[0246]

또한 본 명세서에서는 항염증 화합물, 스테로이드(예컨대, 텍사메타손, 코르티손 및 플루티카손), 진통제, 예컨대, NSAID(예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 인도메타신 및 케토프로펜), 아편유사제(예컨대, 몰핀), 칼시토닌 유전자-관련 웨타이드 수용체 길항제, 아형-선택적 이온 통로 조절제, 항경련제(예를 들어 프레가발린 및 가바펜틴), 이중 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 저해제(예를 들어 둘록세틴, 벤라파신 및 밀나시프란), JAK 패밀리 키나제 저해제(예컨대, 투솔리티닙 또는 토파시티닙), 및 삼환식 항우울제(예컨대, 아미트립틸린, 노르트립틸린 및 데시프라민)로부터 선택된 추가의 치료제와 병용하여 포유동물에서 통증의 치료를 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제가 제공된다. 일 실시형태에 있어서, 본 명세서에서는 NSAID와 병용하여 포유동물에서 통증의 치료를 위한 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제가 제공된다.

[0247]

또한 본 명세서에서는 화합물 1 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염과 병용하여 포유동물에서 통증의 치료를 위한 항염증 화합물, 스테로이드(예컨대, 텍사메타손, 코르티손 및 플루티카손), 진통제, 예컨대, NSAID(예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 인도메타신 및 케토프로펜), 및 아편유사제(예컨대, 몰핀)로부터 선택된 치료제를 포함하는 약제가 제공된다.

[0248]

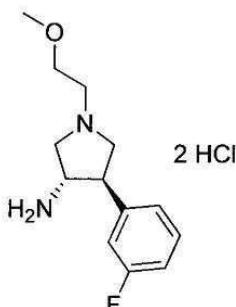
실시예

[0249]

합성 중간생성물의 제조

[0250]

제법 A



[0251]

(*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민 이염산염

[0253]

단계 A: *tert*-뷰틸 (*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일카바메이트의 제조: DMF(3mL) 중 *tert*-뷰틸 (*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)파롤리딘-3-일카바메이트(250mg, 0.89 mmol, 상업적으로 입수 가능함), DIEA(0.48mL, 2.68 mmol) 및 1-브로모-2-메톡시에탄(149mg, 1.07 mmol)의 용액을 주위 온도에서 2시간 동안 교반하고 나서, 4시간 동안 60°C까지 가열하고, 이어서 주위 온도까지 16시간에 걸쳐서 냉각시켰다. EtOAc와 포화 NaHCO₃(각각 10mL) 간에 분배 후, 유기층을 물 및 염수(각각 2 x 10mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과시키고 농축시켜 *tert*-뷰틸 (*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일카바메이트(250mg, 83% 수율)를 점성의 오렌지색 오일로서 수득하였다. LCMS (apci) m/z = 339.1 (M+H).

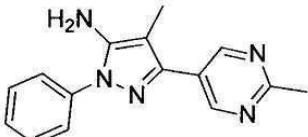
[0254]

단계 B: (*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민 이염산염의 제조: 아이소프로필 알코올 (14.8mL, 73.9 mmol) 중 5 내지 6N HCl 중 *tert*-뷰틸 (*3S,4R*)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일카바메이트(250mg, 0.74 mmol)의 용액을 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 진공 하 농축시키

고, Et₂O와 함께 분쇄하여 표제의 화합물(230mg, 100% 수율)을 베이지색 고체로서 제공하였다. LCMS (apci) m/z = 239.1 (M+H).

[0255]

제법 B



[0256]

4-메틸-3-(2-메틸피리미딘-5-일)-1-페닐-1H-피라졸-5-아민

[0258]

단계 A: 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3(2H)-온의 제조: 다이옥산(100mℓ) 중 에틸 2-사이아노프로파노에이트(50.5g, 397.2 mmol) 및 페닐 하이드라진(39mℓ, 397.2 mmol)의 혼합물을 110℃에서 5일 동안 가열하였다. 냉각된 혼합물을 1/2 용적으로 농축시키고 나서, 열음 속에서 냉각시키고 냉 Et₂O와 함께 분쇄하였다. 얻어진 고체를 여과시키고, Et₂O로 광범위하게 세척하고, 진공 하 건조시켜 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3(2H)-온(34.69g, 46% 수율)을 숨털같은 백색 분말로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 190.1 (M+H).

[0259]

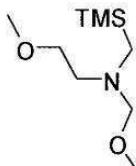
단계 B: 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3-일 트라이플루오로메탄 설포네이트의 제조: DMF(100mℓ) 중 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3(2H)-온(13.72g, 72.5 mmol) 및 N-페닐비스(트라이플루오로메틸설폰아마이드)(27.2g, 76.1 mmol)의 혼탁액을 DIEA(37.9mℓ, 217.5 mmol)로 처리하고 이 혼합물을 주위 온도에서 16시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 포화 NaHCO₃(400mℓ)와 EtOAc(200mℓ) 간에 분배하고, 수성 층을 EtOAc(2 x 200mℓ)로 추출하였다. 유기 상을 합하여 물(5 x 50mℓ) 및 염수(50mℓ)로 세척하고 나서, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과시키고 진공 하에 농축시켰다. 잔사를 4:1 헥산/EtOAc로 용리시키는 실리카 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜, 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3-일 트라이플루오로메탄 설포네이트(23.1g, 99% 수율)를 담황색 고체로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 322.0 (M+H).

[0260]

단계 C: 4-메틸-3-(2-메틸피리미딘-5-일)-1-페닐-1H-피라졸-5-아민의 제조: 5-아미노-4-메틸-1-페닐-1H-피라졸-3-일 트라이플루오로메탄 설포네이트(900mg, 2.8 mmol), 2-메틸-5-(4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-다이옥사보를란-2-일)피리미딘(925mg, 4.2 mmol), K₂CO₃(1.55g, 11.2 mmol) 및 Pd(PPh₃)₄(324mg, 0.28 mmol)를 톨루엔(10mℓ), 물(5mℓ) 및 EtOH(2.5mℓ)에 배합하여 밀봉된 관 속에서 16시간 동안 95℃로 가온시켰다. 냉각된 혼합물을 여과시키고, 여과액을 물(50mℓ)과 EtOAc(50mℓ) 간에 분배하였다. 수성 층을 EtOAc(2 x 30mℓ)로 추출하고, 유기 상을 합하여 염수(30mℓ)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과시키고 진공 하에 농축시켰다. 잔사를 2% MeOH/DCM으로 용리시키는 실리카 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제시켜, 표제의 화합물(533mg, 72% 수율)을 분홍색 고체로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 266.1 (M+H).

[0261]

제법 C



[0262]

2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민

[0264]

단계 A: 2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민의 제조: 90℃에서 2-메톡시에탄아민(14.2mℓ, 163 mmol)의 DMSO 용액(15mℓ)에 (클로로메틸)트라이메틸실란(11.4mℓ, 81.5 mmol)의 DMSO(10mℓ) 용액을 투입 깔때기에 의해 40분에 걸쳐서 침가하였다. 이 혼합물을 90℃에서 3.5시간 동안 가열하고 나서 주위 온도까지 냉각시켰다. 이어서 이 혼합물을 H₂O(150mℓ)로 희석시키고, EtOAc(2 x 150mℓ)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 염수(150mℓ)로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고, 여과시키고 농축시켜 2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민(8.14g, 62% 수율)을 황색 오일로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 162.0 (M+H).

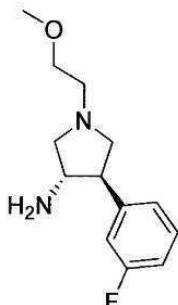
[0265]

단계 B: 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민의 제조: 품알데하이드(37% 수성, 4.91g,

60.6 mmol)의 MeOH(2.45mL) 용액을 0°C로 냉각시키고, 2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민(8.14g, 50.5 mmol)의 추가의 적가로 처리하였다. 2상 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반하고 나서, K₂CO₃(6.97g, 50.5 mmol)를 첨가하고, 이 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. 황색 오일을 K₂CO₃(2.00g, 14.4 mmol) 상에 따라내고, 이 혼합물을 주위 온도에서 2시간 동안 교반하였다. 황색 오일을 따라낸 후, 고체 K₂CO₃를 Et₂O(2 × 10mL)로 세척하고, Et₂O 세척액을 상기 따라낸 황색 오일과 합하고, 회전 증발기 상에서 농축시켜 표제의 화합물(9.92g, 96% 수율)을 황색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.00 (s, 2H), 3.37–3.43 (m, 2H), 3.29 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 2.77–2.82 (m, 2H), 2.18 (s, 2H), 0.00 (s, 9H) ppm.

[0266]

제법 D



[0267]

(3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민

[0268]

단계 A: (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산의 제조: (E)-3-(3-플루오로페닐)아크릴산(25.20g, 151.7 mmol)을 EtOAc(75mL) 및 햅탄(75mL)으로 순차로 처리하고, 이어서 TFA(1.17mL, 15.17 mmol)로 처리하였다. 이 혼합물을 냉수욕(내부 온도 15°C)에 배치하고, 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민[제법 C](69.82g, 197.2 mmol)을, 첨가 동안 13 내지 19°C의 내부 온도를 유지하기 위하여 상기 수욕에 얼음을 첨가하면서, 투입 깔때기로부터 20분에 걸쳐서 적가하였다. 빙욕을 제거하고, 이 혼합물을 주위 온도에서 18시간 동안 교반하고 나서, 냉각시키고(내부 온도 13°C), 추가의 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민(제법 C; 34g)을 6분에 걸쳐서 투입 깔때기로부터 적가하였다. 상기 욕을 제거하고 추가로 4시간 동안 주위 온도에서 교반 후, 이 혼합물을 절반의 용적으로 농축시켰다. 햅탄(100mL)을 첨가하고 이 혼합물을 약 150mL의 용매를 제거하여 부분적으로 농축시켰다. 이것을 2회 반복하여 각 회마다 100mL의 용매를 제거하였다. 잔류 슬러리를 플라스크의 바닥에서 햅탄(50mL)으로 헹구고 나서 밀봉하고 주위 온도에서 64시간 동안 교반하였다. 고체를 여과하고, 햅탄(2 × 50mL)으로 헹구고, 진공 하 건조시켜 (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산(44.99g, 111% 수율)을 담황색 고체로서 제공하였으며, 이것은 다음 단계에서 그대로 사용되었으며, 100% 수율이 상정되었다. MS (apci) m/z = 268.1 (M+H).

[0269]

단계 B: (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드의 제조: THF(440mL) 중 (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산(40.54g, 151.7 mmol)의 혼탁액에 CDI(31.97g, 197.2 mmol)에 이어서 이미다졸 염산염(3.171g, 30.33 mmol)을 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 주위 온도에서 16시간 동안 교반하고, 암모니아(135.0mL, iPrOH 중 2M, 270.0 mmol)를 이어서 투입 깔때기에 의해 30분에 걸쳐서 첨가하였다. 추가로 3시간 동안 교반 후, 얻어진 고체를 여과하고, EtOAc로 세척하고 나서, 여과액을 농축시켰다. 잔사를 EtOAc(200mL)에 용해시키고, 25/75 물:염수(2 × 200mL)로 세척하였다. 유기 상을 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과 후, 농축시키고 진공 하 건조시켜 (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드(54.97g, 136% 수율)를 황색 고체로서 제공하였으며, 이것은 100% 수율로 가정하여 사용되었다. MS (apci) m/z = 267.2 (M+H).

[0270]

단계 C: (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민의 제조: 빙욕에서 냉각된 온도 탐침이 장착된 3-구 1-l 동근 바닥 플라스크 내에서 MeOH(345mL) 중 (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드(29.33g, 85.90 mmol)의 용액에 NaOCl(10 내지 15% 입수 가능한 C1, 수성 용액)(116.3 mL, 189.0 mmol)을 투입 깔때기로부터 20분에 걸쳐서 첨가하였다[내부 온도는 7 내지 13°C였다]. 빙욕을 제거하고, 이 이종의 혼합물을 주위 온도에서 90분 동안, 이어서 55°C에서 3시간 동안 교반하였다. H₂O(225.9mL, 12,542 mmol) 중 KOH(67.48g, 1203 mmol)의 용액을 첨가하고, 이 용액을 75°C에서 19시간 동안 교반하였다. 이

혼합물을 0°C로 냉각시키고, 농축된 HCl(147.1mL, 4,802 mmol)을 30분에 걸쳐서 서서히 첨가하였다. pH를 수성 K₃PO₄(30 중량%, 155mL)의 첨가에 의해 6으로 조절하고, 이 혼합물을 부분적으로 농축시켜, 유기 용매를 제거하였다. 수성 K₃PO₄(30 중량%, 280mL)를 pH 10이 될 때까지 첨가하였다, 이 혼합물을 EtOAc(2 x 450mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 농축시키고, 진공 하에 건조시켜 (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(28.08g, 91% 수율)을 암호박색 시럽으로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 239.2 (M+H).

[0272] 단계 D: (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트의 제조: (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(125mg, 0.52 mmol) 및 (2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙신산(222.9mg, 0.58 mmol)을 4mm 바이알 내로 칭량해 넣고 나서, MeOH(1.57mL)에 이어서 물(0.175mL)로 처리하였다. 이 바이알의 뚜껑을 닫고, 반응 혼합물을 50°C에서 5분 동안 교반하고 나서, 주위 온도까지 17시간에 걸쳐서 서서히 냉각시켰다. 얻어진 고체를 여과시키고, Et₂O(4 x 0.2mL)로 세척하고 나서 진공 하에 건조시켜 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트(131.6mg, 40% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다. 유리-염기 (free-based) 샘플의 카이럴 SFC 분석은 95% ee 초과를 나타내었다. 이 물질은 다음 단계에서 종자 결정으로서 사용되었다:

[0273] (트랜스)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(7.39g, 18.61 mmol)을 MeOH(52.7mL) 중에 용해시키고 (2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙신산(10.78g, 27.91 mmol)에 이어서 H₂O(9.3mL)로 처리하였다. 이 혼합물을 50°C에서 5분 동안 교반하였다. 종자 결정(90mg)을 이 용액에 첨가하고, 이 혼합물을 주위 온도까지 16시간에 걸쳐서 서서히 가온시켰다. 얻어진 고체를 여과시키고, Et₂O(4 x 5mL)로 헹구고 진공 하에 건조시켰다. 잔사를 MeOH(15mL) 및 H₂O(2.7mL) 중에 슬러리화하고, 50°C에서 15분 동안 교반하고, 이어서 주위 온도까지 19시간에 걸쳐서 서서히 냉각시켰다. 얻어진 고체를 여과시키고, Et₂O (3 x 5mL)로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트(3.12g, 27% 수율)를 백색 고체로서 제공하였다. 유리-염기 샘플에 대한 카이럴 분석은 99.7% ee 초과를 나타내었다.

[0274] 단계 E: (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민의 제조: DCM(25mL) 중 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트(2.89g, 4.63 mmol)의 혼탁액을 1M 수성 NaOH(2 x 15mL)로 세척하였다. 수성 상을 합하여 DCM(25mL)으로 추출하고, 유기 추출물을 합하여 염수(30mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과 후, 농축시키고, 진공 하에 건조시켜 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-아민(998mg, 90% 수율)을 얇은 베이지색 오일로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 239.2 (M+H).

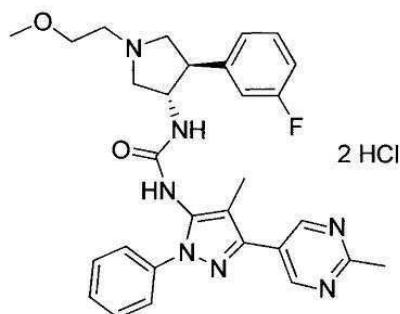
합성 실시예

[0275]

실시예 1

[0276]

1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸페리미딘-5-일)-1-페닐-1H-피라졸-5-일)유레아 이염산염



[0278]

단계 A: 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)페롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸페리미딘-5-일)-1-페닐-1H-피라졸-5-일)유레아의 제조: DCM(2mL) 중 4-메틸-3-(2-메틸페리미딘-5-일)-1-페닐-1H-피라졸-5-아민(제법 B; 61mg, 0.16 mmol)의 용액에 트라이포스겐(24mg, 0.08 mmol)에 이어서 DIEA(84mL, 0.48 mmol)를 첨가하였

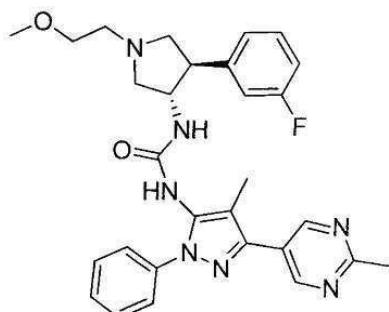
다. 이 혼합물을 주위 온도에서 15분 동안 교반하고 나서 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-아민 이염산염(제법 A; 50mg, 0.16 mmol) 및 DIEA(84ml, 0.48 mmol)로 처리하였다. 이 반응 혼합물을 16시간 동안 교반하였다. 이 혼합물을 물(10ml)과 DCM(10ml) 간에 분배하고, 수성 층을 DCM(2 x 10ml)으로 추출하였다. 유기 상을 합하여 염수(10ml)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 여과 후 농축시켰다. 잔사를 2.5 내지 5% MeOH/DCM으로 용리시키는 실리카 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제시켰다. 생성물을 함유하는 분획을 역상 HPLC(5-95% ACN/물/0.1% TFA)에 의해 더욱 정제시키고 기초적 수성 후가공처리 후 표제의 화합물(28mg, 33% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 530.3 ($\text{M}+\text{H}$).

[0280]

단계 B: 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아 이염산염의 제조: 0°C로 냉각된 DCM(96ml) 중 4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-아민(제법 B; 2.56g, 9.64 mmol)의 용액에 트라이포스텐(1.72g, 5.78 mmol)을 한번에 첨가하고 나서 DIEA(8.40ml, 48.20 mmol)를 적가하였다. 이 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반하였다. (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-아민 이염산염(제법 A; 3.0g, 9.64 mmol)을 이 혼합물에 나누어서 10분에 걸쳐서 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 주위 온도에서 40분 동안 교반하고 나서 물(100ml) 속에 부었다. 상 분액 후, 수성 층을 DCM(2 x 100ml)으로 추출하였다. 유기 상을 합하여 염수(100ml)로 세척하고, 여과 후 농축시켰다. 잔사를 역상 크로마토그래피(SNAP 120g C18, 0.1% HC1과 함께 5 내지 75% MeOH/물)에 의해 정제시키고, 진공 하 건조시켜 표제의 화합물(3.33g, 57% 수율)을 크림색 발포물로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 530.3 ($\text{M}+\text{H}$).

[0281]

실시예 2



[0282]

1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아

[0283]

DCM(15ml) 중 4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-아민(제법 B; 800mg, 3.02 mmol)의 혼탁액에 트라이에틸아민(2.1ml, 15.1 mmol)에 이어서 CDI(587mg, 3.62 mmol)를 첨가하였다. 이 혼합물을 N_2 하에 밀봉하고, 주위 온도에서 22시간 동안 교반하고 나서, DCM(4ml) 중 (3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-아민(제법 D; 826mg, 3.47 mmol)으로 처리하였다. 교반을 100분 동안 계속하였다. 이 혼합물을 DCM(60ml)과 물(100ml) 간에 분배하였다. 상 분액 후, DCM 층을 0.5N HC1(50ml)에 이어서, 0.2N HC1(2 x 25 ml)로 추출하였다. 산 추출물을 합하여, 깨끗한 플라스크에 따라내고, 실온 수욕에 배치하고, 교반하면서 6N NaOH(aq)에 이어서 1N NaOH(aq)로 pH 9 내지 10으로 염기성화시켰다. 혼탁액을 빙욕 속에서 5분 동안 교반하였다. 얻어진 고체를 여과시키고, 물 및 에터(각각 3 x 20ml)로 행구고, 진공 하 건조시켜 표제의 화합물(1.44g, 90% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (apci) m/z = 530.3 ($\text{M}+\text{H}$).

[0284]

실시예 3

(3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)피롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트의 제조

[0285]

단계 A: (2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민의 제조: 플라스크에 (클로로메틸)트라이메틸실란(3300.0g, 1.0당량), 아세토나이트릴(5.28 l) 및 2-메톡시에탄아민(4041.0g, 2.0당량)을 주입하였다. 이 반응 혼합물을 74°C에서 16시간 동안 교반하고 나서, 이 반응물을 25°C까지 냉각시켰다. 펜tan(16 l)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 1분 동안 교반하였다. 총들을 분액시켰다. 바닥층(아세토나이트릴 층)을 도로 분별 깔때기에 첨가하고, 펜tan(16 l)을 이 분별 깔때기에 첨가하였다. 교반 후, 총들을 분액시켰다. 펜tan(16 l)에 의한 추출을 반복하였다. 펜tan층을 합하여 분별 깔때기에 첨가하고, 물(3.3 l)을 첨가하였다. 교반 후, 총들을 분액시켰다.

MeOH(3.0ℓ)를 증기, 기계적 교반, 응축기, J-Kem 온도 탐침 및 투입 깔때기가 장착된 22ℓ 반응기에 첨가하였다. 용매의 분위기 중류를 25°C 내지 45°C에서 수행하였다. 중류 동안, 모든 펜탄 용액이 중류 플라스크에 들어갈 때까지 펜탄 용액을 용적을 약 6.6ℓ에서 유지하는 속도에서 투입 깔때기에 의해 중류 플라스크에 첨가하였다. 플라스크 내의 총 용적이 약 6.6ℓ가 될 때까지 중발을 계속하였다. 이 반응 혼합물을 25°C로 냉각시키고, 주위 온도에서 질소 분위기 하에 교반하여 (2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민(72% 수율)을 제공하였다.

[0288] 단계 B: 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민의 제조: 플라스크에 (2-메톡시-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민(380.0g, 1.0당량), 메탄올(332mℓ) 및 펜탄(193mℓ)을 주입하였다. 이 반응 혼합물을 5°C 미만의 빙수욕 중에서 교반하였다. 37% 수성 폼알데하이드(97.9mℓ, 1.2당량)를 내부 온도를 10°C 미만으로 유지하는 속도로 이 반응 혼합물에 첨가하고, 이 반응 혼합물을 10°C 미만의 온도에서 2시간 동안 교반하였다. tert-뷰틸 메틸 에터(700mℓ, 5.2당량) 및 물(300.0mℓ)을 이 반응 혼합물에 첨가하고, 이 혼합물을 주위 온도에서 약 1분 동안 교반하였다. 층들을 분액시키고, 유기 층을 분별 깔때기에 도로 첨가하였다. 염수(300mℓ)를 분별 깔때기에 첨가하였다. 이 혼합물을 교반하고 층들을 분액시켰다. 탄산칼륨 K₂CO₃(10.0g)를 이 유기 층에 첨가하고, 혼합 후 유기층을 여과지 위에서 여과시켰다. 얻어진 케이크를 tert-뷰틸 메틸 에터로 세척하였다. 유기 층을 합하여 농축시켜 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민을 오일로서 제공하였다(75% 수율).

[0289] 단계 C: 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산의 제조: 플라스크에 (E)-3-(3,4-다이플루오로페닐)아크릴산(57.0g, 1.0당량), 에틸 아세테이트(143mℓ) 및 헵탄(143mℓ)을 주입하고, 이 혼합물을 교반하였다. 트라이플루오로아세트산(2.4mℓ, 0.1당량)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 20°C 미만으로 냉각시켰다. 2-메톡시-N-(메톡시메틸)-N-((트라이메틸실릴)메틸)에탄아민을 투입 깔때기에 의해 내부 온도를 20°C 내지 25°C로 유지하는 속도에서 첨가하고, 이 반응 혼합물을 20°C에서 2시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 감압 하에 10°C 내지 27°C의 온도에서 농축시켰다. 에틸 아세테이트(200mℓ)를 이 잔사에 첨가하고, 이 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔사를 20°C에서 하룻밤 교반하였다. 헵탄을 나누어서 첨가함으로써(총 용적: 1200mℓ) 진공 중류에 의해 불술물의 공비혼합물 제거를 수행하였다. 얻어진 슬러리를 20°C에서 하룻밤 정치시키고 나서 여과지 상에서 여과시켰다. 얻어진 케이크를 헵탄으로 행구고 45°C에서 약 4시간 동안 진공 중 건조시켜 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산(90% 수율)을 제공하였다.

[0290] 단계 D: 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드의 제조: 플라스크에 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복실산(98.3g, 1.0당량), 카보닐 디아이미다졸(69.8g, 1.3당량), HCl 이미다졸(7.2g, 0.2당량), 및 테트라하이드로퓨란(1000mℓ)을 주입하였다. 이 반응 혼합물을 1시간 동안 25°C에서 교반하고 나서 주위 온도(약 20°C)에서 질소 하에 하룻밤 교반하였다. 암모니아(아이소프로필 알코올 중 2.0M)(307mℓ, 1.8당량)를 이 반응 혼합물에 15분에 걸쳐서 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 25°C에서 약 30분 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 여과지 상에서 여과시키고, 여과된 고체를 EtOAc(200mℓ)로 행구었다. 유기 층을 합하여 감압 하에 37°C에서 농축시켰다. 얻어진 조질의 오일에 에틸 아세테이트(200mℓ)를 첨가하고, 이 혼합물을 감압 하에 37°C에서 농축시켰다. 잔사에 에틸 아세테이트(200mℓ), 물(500mℓ) 및 NaCl(82.0g, 4.1당량)을 첨가하고, 이 혼합물을 약 2분 동안 주위 온도에서 교반하였다. 층들을 분액시키고, 유기 층을 합하여 감압 하에 37°C에서 농축시켜 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드(99% 수율)를 제공하였다.

[0291] 단계 E: 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민의 제조: 플라스크에 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-카복스아마이드(96.8g, 1.0당량) 및 메탄올(1450mℓ)을 주입하고, 이 반응 혼합물을 5°C로 냉각시켰다. 차아염소산나트륨(462.2mℓ, 2.2당량)의 10% 용액을 내부 온도를 20°C 미만으로 유지되는 속도에서 투입 깔때기에 의해 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 1시간 동안 20°C에서, 이어서 55°C에서 1시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물에 물(100mℓ) 중 용액으로서 수산화칼륨(314.6g, 14.0당량)을 5분에 걸쳐서 첨가하고, 이 반응 혼합물을 72°C 내지 75°C에서 12시간 동안 교반하였다. 이 반응 혼합물을 55°C까지 냉각시키고, 37 중량% HCl(583.8mℓ, 55.9당량)을 10분에 걸쳐서 첨가하여 pH를 2 이하로 조정하였다. 삼염기성 K₃PO₄(30 중량%, 100.0mℓ)를 첨가하여 이 반응 혼합물의 pH를 6 내지 7로 조정하였다. 이 반응 혼합물을 감압 하에 37°C에서 농축시켰다. 얻어진 수성 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고, 30 중량% 삼염기성 K₃PO₄(540.0mℓ) 및 37 중량% 삼염기성 K₃PO₄(50.0mℓ)를 첨가하여 pH를 10 이상으로 조정하였다. EtOAc(1000mℓ)를 첨가하고, 이 혼합물을 약 2분 동안 주위 온도에서 교반하였다. 층들을 분액시키고, 수성 층을 이 분별 깔때기

에 도로 첨가하였다. 이 분별 깔때기에 EtOAc(500mL)를 첨가하고, 이 혼합물을 교반하였다. 층들을 분액시키고, 유기 층을 합하여 감압 하에 농축시켜 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민(99% 수율)을 제공하였다.

[0292] 단계 F: (3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트의 제조: 플라스크에 트랜스-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민(123.3g, 1.0당량) 및 메탄올(1603mL)을 첨가하였다. 이 혼합물을 주위 온도에서 교반하였다. (2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙신산(145.0g, 1.5당량) 및 물(295mL)을 첨가하고, 이 반응 혼합물을 65°C까지 가열하였다. 이 반응 혼합물을 (3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트(0.5g, 0.7당량)와 함께 과종하고(종자들은 소규모로 반응을 수행함으로써 제조되었고, 이것은 생성물을 고체로서 제공하고), 이 반응 혼합물을 25°C까지 16시간에 걸쳐서 서서히 냉각시켰다. 슬러리를 여과지 상에서 여과시켰다. 얻어진 케이크를 tert-뷰틸 메틸 에터(700mL)로 헹구고 나서 전공 오븐 속에서 45°C에서 약 4시간 동안 건조시켜 (3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-아민(2S,3S)-2,3-비스((4-메틸벤조일)옥시)숙시네이트(2단계에 걸쳐서 35% 수율)를 제공하였다.

[0293] 생물학적 검정

[0294] 생물학적 검정에서, 화합물 1은 1-((3S,4R)-4-(3-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아를 지칭하고; 화합물 2는 1-((3S,4R)-4-(3,4-다이플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일)-3-(4-메틸-3-(2-메틸파리미딘-5-일)-1-페닐-1H-파라졸-5-일)유레아(WO 2012/158413에 개시됨)를 지칭하며; 그리고 화합물 3은 1-(1',4-다이메틸-1-페닐-1H,1'H-[3,4'-바이파라졸]-5-일)-3-((3S,4R)-4-(4-플루오로페닐)-1-(2-메톡시에틸)파롤리딘-3-일)유레아(WO 2012/158413에 개시됨)를 지칭한다.

[0295] 실시예 A

[0296] TrkA 키나제 결합 검정

[0297] TrkA 결합 활성은 TrkA 랜타스크린(LanthaScreen)(상표명) Eu 키나제 결합 검정에서 결정하였다. 5nM His-태그된 재조합 인간 TrkA(6HIS 태그된 세포질 도메인, 인비트로젠사(Invitrogen) 제품, 카탈로그 번호 PV3144)를 완충액(25mM MOPS, pH 7.5, 5mM MgCl₂, 0.005% 트리톤(Triton) X-100) 중 4nM 알렉사-플루오르(Alexa-Fluor)(등록상표) 트레이서(Tracer) 236(인비트로젠사 카탈로그 번호 PV5592), 2nM 바이오틴화 항-His(인비트로젠사 카탈로그 번호 PV6090) 및 2nM 유로퓸-표지된 스트렙타비딘(인비트로젠사 카탈로그 번호 PV5899)으로 인큐베이팅하였다. DMSO 중 화합물 1, 화합물 2 또는 화합물 3의 3배 계열 희석물을 2% DMSO의 최종 백분율에 첨가하였다. 22°C에서 60분 인큐베이션 후에, 이 반응은 615nM 및 665nM에서의 TR-FRET 이중 파장 검출을 통해서 엔비전 멀티모드 플레이트 리더(EnVision multilmode plate reader)(퍼킨엘머사(PerkinElmer))를 이용해서 측정하였다. 대조군 퍼센트는 비율계량 방출 인자(ratiometric emission factor)를 이용해서 계산되었다. IC₅₀ 값은 4 파라미터 모델을 대조군 퍼센트 데이터에 적합화시킴으로써 구하였다.

[0298] 화합물 1은 실시예 A의 검정에서 시험되는 경우 1.1nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다. 화합물 2는 실시예 A의 검정에서 시험되는 경우 1.5nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다. 화합물 3은 실시예 A의 검정에서 시험되는 경우 1.7nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다.

[0299] 실시예 B

[0300] TrkA 세포 검정

[0301] 인간 야생형 TrkA로 형질감염된 CHO-K1 세포를, 10% FBS를 함유하는 완전 DMEM 배지에서 3×10^5 세포/웰에서 96-웰 평판 바닥 플레이트에 평판배양하고, 24시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 부착시켰다. 배지를 이어서 완전 혈청 무함유 검정 배지로 교체하고 세포를 1시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 혈청 기아시켰다. 세포를 최종 농도 범위가 1μM 내지 152pM이 되도록 1:3 계열 희석을 이용해서 화합물 1, 2 또는 3으로 처리하였다. 이 화합물을 1시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 세포 상에서 인큐베이팅하였다. 세포를 이어서 7분 동안 37°C, 5% CO₂에서 30 ng/mL 인간 NGF의 최종 농도로 자극시켰다. 배지를 제거하고, 세포를 인산염 및 프로테아제 저해제를 함유하는 용해 완충액으로 용해시켰다. 포스포-TrkA를 ELISA(R&D 카탈로그 번호 DYC2578)에 의해 측정하였다. ELISA에 의해 총

TrkA를 포획하고 총 포스포-티로신을 검출하였다. 광학 밀도를 450nm의 파장에서 베사맥스 리더(Versamax reader)를 이용해서 각 웰에 대해서 측정하였다. IC₅₀ 값은 4 파라미터 모델을 대조군 퍼센트 데이터에 적합화시킴으로써 결정하였다.

[0302] 화합물 1은 실시예 B의 검정에서 시험한 경우 1.9nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다. 화합물 2는 실시예 B의 검정에서 시험한 경우 1.3nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다. 화합물 3은 실시예 B의 검정에서 시험한 경우 6.1nM의 평균 IC₅₀ 값을 지녔다.

실시예 C

화합물 1, 2 및 3의 인간 마이크로솜 및 인간 간세포 청소율

간 마이크로솜 인큐베이션

100mM 인산칼륨 검정 완충 용액(KPB)은 다음과 같이 제조하였다. KH₂PO₄와 K₂HPO₄를 둘 다 최종 농도 100mM로 되도록 시약 등급수에 개별적으로 용해시켰다. K₂HPO₄:KH₂PO₄의 75:25 혼합률 v/v를 준비하고 이 용액의 pH를 회석된 HCl 또는 회석된 NaOH 용액을 이용해서 7.4로 조정하였다. 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 스톡 용액을 DMSO 중 10mM(활성 화합물)에서 제조하였다. 스톡 용액을, KPB 용액을 이용해서 2.5 μM로 사용 직전에 회석시켜 작업 표준을 작성하였다. 모든 시험 화합물을 실온에서 시각적 검사에 의해 DMSO 중에 완전히 가용성이었다. NADPH-재생 용액(NRS)을, 1 용적의 17 mg/ml NADP⁺를 1 용적의 78 mg/ml 글루코스-6-포스페이트(둘 다 KPB 중에 제조됨, pH 7.4) 및 7.9 용적의 20mM MgCl₂로 회석시킴으로써 분석 당일에 제조하였다. NADP⁺ 및 글루코스-6-포스페이트의 최종 농도는 각각 1.7 mg/ml 및 7.8 mg/ml였다. 사용 직전에, NRS는 NRS 스톡 용액의 ml당 10μl의 글루코스-6-포스페이트 탈수소효소(150 단위/ml(KPB 중), pH 7.4)의 첨가에 의해 활성화시켰다. 간 마이크로솜은 KPB를 이용해서 2.5mg 단백질/ml로 회석시켰다.

[0307] 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3, 및 각 양성 대조군(즉, 텍스트로메토판, 디아제팜, 딜티아젬, 페나세틴, 톨류부타마이드 및 베라파밀)에 대해서, 시험 화합물의 2.5 μM 작업 표준 용액 20μl 및 마이크로솜(2.5mg 단백질/ml) 20μl를 두 벌의 96-웰 폴리프로필렌 플레이트(코스타(Costar), VWR, 펜실베니아주의 웨스터체스터시에 소재)의 각 웰에 첨가하였다. 출발 용액을 첨가하기 전에 플레이트를 인큐베이터 내에 37°C에서 5분 동안 배치하였다. NRS 용액의 10-μl 분취액을 각 본래의 웰에 첨가하여 대사를 개시하였다. 인큐베이션의 시작 시 시험 화합물의 농도는 1 μM이었다. 1개의 인큐베이션 플레이트를 각 시점(즉, 0 및 20분)에 대해서 준비하였다. 인큐베이션은 37°C 및 100% 상대 습도에서 수행하였다. 각 시점에서, 적절한 인큐베이션 플레이트를 인큐베이터로부터 제거하고 내부 표준을 함유하는 용액(150μl, 60% 아세토나이트릴 중 0.25 μM 라베탈룰)을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 알레그라 벤치탑 원심분리기(Allegra benchtop centrifuge)(베크만 콜터사(Beckman Coulter), 캘리포니아주의 폴러턴시에 소재)를 사용해서 실온에서 2,095 x g에서 7분 동안 원심분리기 속에서 즉시 회전시켰다. 상청액의 200-μl 분취액을 각 웰로부터 96-웰 셀로우 플레이트(well shallow plate)(코스타사)로 옮겼다. 플레이트는 재사용 가능한 플레이트 매트를 이용해서 밀봉하였다.

간세포 인큐베이션

[0309] 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 스톡 용액을 DMSO 중 10mM(활성 화합물)에서 제조하였다. 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3(1 μM)의 시험관내 안정성은 다음과 같이 간세포의 존재 하에 평가하였다. 저온 보존된 간세포를 해동하고, 선적 중인 배지로부터 단리시키고, 그리고 둘베코의 변형 이글 배지 1X인 하이 글루코스(DMEM, 인비트로젠사, 캘리포니아주의 칼스배드시에 소재)를 이용해서 공급사의 지침에 따라서 1 x 10⁶개 생세포/ml의 밀도로 회석시켰다. 생존능은 혈구계산기(3500 하우저(Hausser), VWR, 펜실베니아주의 웨스터체스터시에 소재)를 사용해서 트리판 블루 배제에 의해 결정하였다. 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 10mM 스톡 용액을, 보충된 DMEM을 이용해서 2 μM로 회석시켜 작업 표준을 작성하였다. 시험 화합물 또는 대조군(즉, 안티피린, 디아제팜, 딜티아젬, 로라제팜, 프로프라놀롤, 베라파밀 및 7-에틸-10-하이드록시캄프토테신 [SN-38])의 20-μl 분취액을 96-웰 폴리프로필렌 플레이트(코스타사, VWR, 펜실베니아주의 웨스터체스터시에 소재)의 각 시험 웰에 첨가한 직후 20μl의 간세포 혼탁액을 첨가하였다. 1개의 인큐베이션 플레이트를 두 벌로 제조한 샘플과 함께 각 시점(즉, 0, 60 및 120분)에 대해서 제조하였다. 인큐베이션은 37°C 및 100% 상대 습도에서 수행하였다. 각 시점에서, 적절한 인큐베이션 플레이트를 인큐베이터로부터 제거하고 IS 함유 용액(200μl, 60% 아세토나이트릴 중 0.25 μM 라베탈룰)을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 플레이트 진탕기(IKA MTS 2/4 디지털 마이크로타이터 진

탕기(Digital Microtiter Shaker), VWR) 상에서 700 rpm에서 1분 동안 혼합하고 그 직후 알레그라 벤치탑 원심 분리기(베크만 콜터사, 캘리포니아주의 풀러턴시에 소재)를 사용해서 실온에서 2,095 x g에서 10분 동안 원심분리기 속에서 즉시 회전시켰다. 상청액의 200- μ l 분취액을 각 웰로부터 96-웰 셀로우 플레이트(코스타사)로 옮겼다. 플레이트는 재사용 가능한 플레이트 매트를 이용해서 밀봉하였다.

[0310] 계산

[0311] 모든 계산은 바이오아세이 엔터프라이즈(BioAssay Enterprise)를 이용해서 수행하였다. 평균 피크 면적비는 각 샘플에 대한 내부 표준 및 화합물 1, 화합물 2, 화합물 3의 피크 면적비($n = 2$)를 평균해서 계산하였다. 잔류 퍼센트는 제로 타임 샘플의 피크 면적비에 대한 각 시점에서의 피크 면적비의 비를 구함으로써 계산하였다. 시험 화합물의 손실비(k_m)는 $-\ln(f(t))$ 의 선형 회귀 대 시간에 의해 구하였다. 회귀는 형태 "y = mx"를 사용하였고, 따라서 모델은 100% 잔류의 절편을 강행하였으며, 그리고 대사는 1차 역학을 따른 것으로 가정하였다. $t_{1/2}$ 는 $\ln(2)$ 를 k_m 으로 나누어서 구하였다. 예측된 고유 청소율(CL_{int})은 이하의 방정식에서 이용되고 그리고 표 5에 나열된 물리적 및 생리적 스케일링 인자를 이용해서 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 각각의 안정성에 대해서 시험관내 반감기를 스케일링함으로써 계산하였다:

$$CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad (\text{식 } 1)$$

[0312] [0313] 식 중, D는 특정 종에 대한 간의 질량 당 간세포의 개수이다. W는 동물의 중량 당 존재하는 간의 평균 질량이고, C는 단위 체적 당 인큐베이션 동안 존재하는 간세포의 개수이다. 예측된 간 청소율(CL_h)은 이하의 방정식에서 이용되고 그리고 표 5에 나열된 물리적 및 생리적 스케일링 인자를 이용해서 계산하였다:

$$CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

[0314] [0315] 식 중, Q는 종-의존적 간 혈류이다. 이 시험 화합물의 미결합 분획(f_u)에 대해서는 조정하지 않았다. 예측된 간 추출비(ER)는 간 혈류에 대한 예측된 CL_h 의 비를 계산함으로써 구하였다.

$$ER = \frac{CL_h}{Q}$$

표 5

종	W ^a	Q ^b	D (mic.) ^c	D (hep.) ^d
마우스	87.0	90	50	1.20E+08
래트	45.0	70	45	1.35E+08
토끼	30.8	71	78	1.20E+08
개	32.0	35	55	1.20E+08
원숭이	32.0	44	60	1.20E+08
인간	25.7	20	53	1.20E+08

a) W = 동물의 질량(kg)당 간의 평균 질량(g).

b) Q = 평균 간 혈류 ($\text{mL}/\text{분}/\text{kg}$).

c) D (mic.) = 간의 질량(g) 당 사이토크롬 P450-관련 단백질의 양(mg).

d) D (hep.) = 간의 질량(g) 당 간세포의 개수.

[0317]

[0318]

실시예 D

[0319]

수컷 스프라그 돌리 래트 약동학

[0320]

화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 각각은 화합물(건조)을 20% 트랩솔(Trappsol)(등록상표)(하이드록시프로필 베타 사이클로덱스트린; CDT사)(수성) pH 5.0에 첨가하고 균질 혼탁액(PO) 또는 용액(IV)이 얻어질 때까지 소용돌이 혼합하여 조제하였다.

[0321]

정맥내 투약을 위하여, 동물을 O_2 로 밸런스를 이룬 3% 아이소플루란으로 마취시켰다. 1 mg/kg의 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3을 측면 꼬리 정맥에 1 mL/kg의 투약 용적에서 투여하였다. 동물을 마취 하(O_2 로 밸런스를 이룬 3% 아이소플루란, 0.2 mL/시점)에 둔 상태에서 반대쪽 측면 꼬리 정맥으로부터 이하의 시점: 1분, 5분, 15분, 30분, 그리고 1시간, 2시간, 4시간, 8시간 및 24시간에서 NaEDTA 튜브(1.5% v/v) 내에 채혈하고 철저하게 혼합하였다.

[0322]

경구 투약을 위하여, 래트에는 하룻밤 절식 후 단일 경구 용량을 공급하였다. 동물을 O_2 로 밸런스를 이룬 3% 아이소플루란(0.2 mL/시점)으로 마취시킨 상태에서 측면 꼬리 정맥으로부터 이하의 시점: 5분, 15분 및 30분, 그리고 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 24시간 및 26시간에서 NaEDTA 튜브(1.5% v/v)에 채혈하고 철저하게 혼합하였다. 채혈하고 나서 24시간 후에, 동물에 경구로 재투약하고, 혈장 및 뇌를 화합물 분석을 위하여 투약 2시간 후에 수집하였다. 뇌는 제거 전에 식염수로 관류시키고 칭량하고 나서 LCMS/MS에 의해 분석할 때까지 액체 질소 중에서 급속 냉동시켰다. 혈장은 14,000 rpm에서 10분 동안 원심분리에 의해 분리하고, 혈장 샘플을 고무 마개를 구비한 96 웰 플레이트 튜브로 옮기고 분석할 때까지 -20 ± 5°C에서 보관하였다.

[0323]

혈장 분석

[0324]

단일의 12-점 교정 곡선은 표준 용액을 제공하기 위하여 DMSO 중 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 40- $\mu\text{g}/\text{mL}$ 스톡 용액을 제1 계열 회석(3배)함으로써 제조하였다. 혈장(20 μl)을 이어서 추출 플레이트에 첨가하고, 2.5 μl 의 각 표준 용액을 미경험 혈장에 첨가하였다. 내부 표준의 스톡 용액(아세토나이트릴 중 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 10.0 μl)을 각 표준 및 샘플 용액에 첨가하였다. 단백질 물질이 총 용적 350 μl 에 대해서 317.5 μl 의 아세토나이트릴의 첨가에 의해 20 μl 의 혈장으로부터 석출되었다. 샘플을 5분 동안 소용돌이 혼합하고 4°C에서 대략 1,500 x g에서 15분 동안 알레그라(Alegra) X-12R 원심분리기(베크만 콜터사, 캘리포니아주의 플러턴시에 소재)에서 회전시켰다. 각 상청액의 100- μl 분취액을 550 μl 퍼스널 피펫터(Personal Pipettor)(아프리코트 디자인사

(Apricot Designs), 캘리포니아주의 몬로비아시에 소재)를 통해서 96-웰 플레이트로 옮기고, HPLC 등급수로 1:1로 희석시켰다. 얻어진 플레이트를 플레이트 매트로 밀봉하고 혈장 내 화합물 1의 양을 LC-MS/MS에 의해 분석하였다.

[0325]

LC-MS/MS 시스템은 HTC-PAL 오토샘플러(리프 테크놀로지즈사(Leap Technologies, Inc.), 노스캐롤라이나주의 캐르보로시에 소재), HP1100 HPLC(애질런트 테크놀로지즈사(Agilent Technologies Inc.), 캘리포니아주의 산타클라라시에 소재), 및 API4000 트리플 4중극 질량 분광계(triple quadrupole mass spectrometer)(어플라이드 바이오시스템즈사(Applied Biosystems), 캘리포니아주의 포스터시티에 소재)로 구성되었다. 분석물 및 내부 표준의 크로마토그래피 체류는 이동상 A(수성 0.1% 품산 및 1% 아이소프로필 알코올 중 10mM 아세트산 암모늄) 및 B(89.9% 아세토나이트릴, 10% 메탄올, 0.1% 품산 중 10mM 아세트산 암모늄)를 이용하는 구배 조건과 함께 폐노메넥스(Phenomenex)(등록상표) 시너지 4 μ 하이드로-RP 80A 칼럼(Synergi 4 μ Hydro-RP 80A column)(2.1 x 30 mm, 4 μ M 입자 크기; 폐노메넥스사(Phenomenex), 캘리포니아주의 토런스시에 소재)을 이용해서 얻었다. 단일 주사에 대해서 재평형화 시간을 포함하는 총 실행 시간은 3.5분이었고, 유량은 0.8 mL/분이었다. 용매 B는 1.0분에 5%에서 95%로 증가시키고, 1.0분 동안 95%에서 유지하고, 이어서 0.1분에 5%로 감소시켰다.

시간(분)	이동상 A (%)	이동상 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
2.25	5	95
2.35	95	5
3.50	95	5

[0326]

뇌 분석

[0327]

단일의 12-점 교정 곡선은 DMSO 중 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 40- μ g/mL 스톡 용액을 제1 계열 희석(3배)함으로써 제조하였다. 뇌 파쇄액은 뇌를 수용하고 있는 원추형 50mL튜브에 물 5.0mL를 첨가함으로써 제조하였다. 튜브의 내용물은 옴니-프레프 멀티 샘플 호모지나이저(Omni-Prep Multi Sample Homogenizer)(미국 조지아주의 케너쏘시에 소재)를 이용해서 22,000 RPM에서 180초 동안 균질화하였다. 이 파쇄액(100 μ L)을 추출 플레이트에 첨가하고, 2.5 μ L의 각 표준 용액을 미경험 뇌 파쇄액에 첨가하였다. 내부 표준의 스톡 용액(아세토나이트릴 중 2.5 μ g/mL의 10.0 μ L)을 후속하여 각 표준 및 샘플 용액에 첨가하였다. 단백질 물질이 총 용적 350 μ L에 대해서 237.5 μ L의 아세토나이트릴의 첨가에 의해 100 μ L의 마우스 종양 파쇄액으로부터 석출되었다. 샘플을 5분 동안 소용돌이 혼합하고 4°C에서 대략 1,500 x g에서 15분 동안 알레그라 X-12R 원심분리기(베크만 콜터사, 캘리포니아주의 풀러턴시에 소재)에서 회전시켰다. 각 상청액의 100- μ L 분취액을 550 μ L 퍼스널 피페터(아프리코트 디자인즈사, 캘리포니아주의 몬로비아시에 소재)를 통해서 96-웰 플레이트로 옮기고, HPLC 등급수로 1:1로 희석시켰다. 얻어진 플레이트를 플레이트 매트로 밀봉하고 뇌 내 화합물 1의 양을 LC-MS/MS에 의해 분석하였다.

[0329]

LC-MS/MS 시스템은 HTC-PAL 오토샘플러(리프 테크놀로지즈사, 노스캐롤라이나주의 캐르보로시에 소재), HP1100 HPLC(애질런트 테크놀로지즈사, 캘리포니아주의 산타클라라시에 소재), 및 API4000 트리플 4중극 질량 분광계(어플라이드 바이오시스템즈사, 캘리포니아주의 포스터시티에 소재)로 구성되었다. 분석물 및 내부 표준의 크로마토그래피 체류는 이동상 A(수성 0.1% 품산 및 1% 아이소프로필 알코올 중 10mM 아세트산 암모늄) 및 B(89.9% 아세토나이트릴, 10% 메탄올, 0.1% 품산 중 10mM 아세트산 암모늄)를 이용하는 구배 조건과 함께 폐노메넥스(등록상표) 시너지 4 μ 하이드로-RP 80A 칼럼(2.1 x 30 mm, 4 μ M 입자 크기; 폐노메넥스사, 캘리포니아주의 토런스시에 소재)을 이용해서 얻었다.

시간(분)	이동상 A (%)	이동상 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
2.25	5	95
2.35	95	5
3.50	95	5

[0330]

[0331] 단일 주입을 위하여 재평형화 시간을 포함하는 총 실행 시간은 3.5분이었고 유량은 0.8 mL/분이었다. 용매 B는 1.0분에 5%에서 95%로 증가시키고, 1.0분 동안 95%에서 유지하고, 이어서 0.1분에 5%로 감소시켰다. 분석물의 질량 분광분석 검출은 ESI+ 이온화 모드를 이용해서 달성하였다. 이온 전류는 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 스톡 용액의 주입 동안 최적화되었다. 분석물 반응은 각 화합물에 대해서 고유한 전이의 다중 반응 검지법 (multiple reaction monitoring: MRM)에 의해 측정하였다. 약동학적 파라미터는 사내 소유 소프트웨어(쉐어락 버전(Sherlock Version) 2.1)를 이용해서 확립된 비구획 모델링에 의해서 계산되었다. AUC는 선형 사다리꼴 적분을 이용해서 계산되었다.

[0332]

실시예 E

[0333]

개 약동학

[0334] 1 mL/kg 투약 용적에서 1 mg/kg의 전달을 위한 IV 용량 제형은 다음과 같이 제조하였다. 제형을 위한 비히클은 수중 20% 트랩솔(등록상표)(하이드록시프로필 베타 사이클로텍스트린; CDT사)(수성)이었다. 비히클의 최종 용적을 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3(건조 화합물)의 각각에 첨가하고, 이 혼합물은 균질 용액이 얻어질 때까지 교반하였다. 최종 용액의 pH는 7이었다. 이 용액은 동물에게 전달하기 전에 0.2 μM 필터를 이용해서 여과시켰다.

[0335]

수컷 비글 개에게 하룻밤 절식 후 단일 정맥내 용량을 공급하였다. 혈액/혈장은 투약 후 이하의 시점: 0분, 1분, 5분, 15분 및 30분, 그리고 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간 및 48시간에서 K₂EDTA 채혈관에 (1.5 mL/시점) 수집하고, 철저하게 혼합하였다. 혈액 샘플은 의식 있는 동물로부터의 목 정맥, 요측피 정맥 또는 복재 정맥으로부터 수집하였다. 혈액 샘플은 혈장에 대해서 처리할 때까지 얼음 상에서 유지하였다. 혈액 샘플은 3200 RPM에서 10분 동안 대략 5°C에서 원심분리하였다. 혈장 샘플은 96-웰 플레이트 튜브(매트릭스테크(MatrixTech), 0.75mL)로 직접 옮겼다. 고무 주입 가능한 마개를 96-웰 플레이트 튜브 상에 배치하였다. 혈장 샘플은 분석될 때까지 -20 ± 5°C에서 보관하였다.

[0336]

혈장 분석

[0337]

단일의 12-점 교정 곡선은 표준 용액을 제공하기 위하여 DMSO 중 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 40-μg/mL 스톡 용액을 제1 계열 회석(3배)함으로써 제조하였다. 혈장(20μL)을 이어서 추출 플레이트에 첨가하고, 2.5μL의 각 표준 용액을 미경험 혈장에 첨가하였다. 내부 표준의 스톡 용액(아세토나이트릴 중 2.5 μg/mL의 10.0μL)을 각 표준 및 샘플 용액에 첨가하였다. 단백질 물질이 총 용적 350μL에 대해서 317.5μL의 아세토나이트릴의 첨가에 의해 20μL의 혈장으로부터 석출되었다. 샘플을 5분 동안 소용돌이 혼합하고 4°C에서 대략 1,500 x g에서 15분 동안 알레그라 X-12R 원심분리기(베크만 콜터사, 캘리포니아주의 플러던시에 소재)에서 회전시켰다. 각 상청액의 100-μL 분취액을 550μL 퍼스널 피페터(아프리코트 디자인즈사, 캘리포니아주의 몬로비아시에 소재)를 통해서 96-웰 플레이트로 옮기고, HPLC 등급수로 1:1로 희석시켰다. 얻어진 플레이트를 플레이트 매트로 밀봉하고 혈장 내 화합물 1의 양을 LC-MS/MS에 의해 분석하였다.

[0338]

LC-MS/MS 시스템은 HTC-PAL 오토샘플러(리프 테크놀로지즈사, 노스캐롤라이나주의 캐르보로시에 소재), HP1100 HPLC(애질런트 테크놀로지즈사, 캘리포니아주의 산타클라라시에 소재), 및 API4000 트리플 4중극 질량 분광계 (어플라이드 바이오시스템즈사, 캘리포니아주의 포스터시티에 소재)로 구성되었다. 분석물 및 내부 표준의 크로마토그래피 체류는 이동상 A(수성 0.1% 폼산 및 1% 아이소프로필 알코올 중 10mM 아세트산 암모늄) 및 B(89.9% 아세토나이트릴, 10% 메탄올, 0.1% 폼산 중 10mM 아세트산 암모늄)를 이용해서 구배 조건과 함께 페노메넥스(등록상표) 시너지 4 μ 하이드로-RP 80A 칼럼(2.1 x 30 mm, 4 μM 입자 크기; 페노메넥스사, 캘리포니아주의 토런스

시에 소재)을 이용해서 얻었다. 단일 주사에 대해서 재평형화 시간을 포함하는 총 실행 시간은 3.5분이었고, 유량은 0.8 mL/분이었다. 용매 B는 1.0분에 5%에서 95%로 증가시키고, 1.0분 동안 95%에서 유지하고, 이어서 0.1분에 5%로 감소시켰다.

시간(분)	이동상 A (%)	이동상 B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
2.25	5	95
2.35	95	5
3.50	95	5

[0339]

[0340] 분석물의 질량 분광분석 검정은 ESI+ 이온화 모드를 이용해서 달성하였다. 이온 전류는 화합물 1, 화합물 2 및 화합물 3의 스톡 용액의 주입 동안 최적화되었다. 분석물 반응은 각 화합물에 대해서 고유한 전이의 다중 반응 검지법(MRM)에 의해 측정하였다. 약동학적 파라미터는 사내 소유 소프트웨어(쉐어락 버전 2.1)를 이용해서 확립된 비구획 모델링에 의해서 계산되었다. AUC는 선형 사다리꼴 적분을 이용해서 계산되었다.

[0341]

실시예 F

패스트패치(FASTPatch)(등록상표) hERG 검정

[0343]

[0343] 이 검정은 인간 배아 신장 세포(HEK293)에서 발현되는 클로닝된 hERG 칼륨 통로 상에서의 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 효과를 측정하는데 이용되었다. 포유동물 세포에서 발현된 hERG(human Ether- α -go-go-related gene) 칼륨 통로 전류(IKr에 대한 대용물, 신속하게 활성화되는 자연된 정류자 심장 칼륨 전류)에 대한 화합물 1, 화합물 2, 및 화합물 3의 시험관내 효과는 큐패치 HT(QPatch HT)(등록상표)(소피온 바이오사이언스사 (Sophion Bioscience A/S), 덴마크 소재), 자동 병렬 패치 클램프 시스템을 이용해서 실온에서 평가되었다. 시험 물품은 0.3, 1, 3, 10, 30 및 100 μ M에서 평가되었고, 각 농도는 3개 이상의 세포($n \geq 3$)에서 시험되었다. 각 시험 물품 농도에 대한 노출 지속기간은 3분이었다. 양성 대조군은 hERG 저해에 대한 시험 시스템의 감도를 확인하였다.

[0344]

실시예 G

p38 키나제 결합 검정

[0346]

[0346] 화합물 1의 p38 α 결합 활성은 p38 α 란타스크린(상표명) Eu 키나제 결합 검정에서 구하였다. 5nM의 비활성, GST-태그된 재조합 인간 p38 α (GST-태그된 세포질 도메인, 인비트로젠사 제품, 카탈로그 번호 PV3305)는 완충액 (25mM [Na⁺] HEPES pH 7.3, 10mM MgCl₂, 100 μ M NaVO₄) 중 5nM 알렉사-플루오르(등록상표) 트레이서 199(인비트로젠사 카탈로그 번호PV5830), 및 2nM 유로퓸 표지된 항-GST 항체(인비트로젠사 카탈로그 번호 PV5594)와 함께 인큐베이팅하였다. DMSO 중 화합물 1의 3배 계열 희석물을 최종 백분율의 2% DMSO에 첨가하였다. 22°C에서 60분 인큐베이션 후에, 이 반응은 615nM 및 665nM에서의 TR-FRET 이중 파장 겹출을 통해서 엔비전 멀티모드 플레이트 리더(퍼킨엘머사)를 이용해서 측정하였다. 대조군 퍼센트는 비율계량 방출 인자를 이용해서 계산되었다. IC₅₀ 값은 4 파라미터 모델을 대조군 퍼센트 데이터에 적합화시킴으로써 구하였다. 화합물 1은 p38 α 보다 TrkA에 대해서 1000배 더 많은 역가인 것으로 밝혀졌다.

[0347]

실시예 H

표적외(off-target) 키나제 프로파일링

[0349]

[0349] 화합물 1은 밀리포어사(Millipore, Inc.)에 의한 그들의 키나제프로파일러(KinaseProfiler)(상표명) 서비스에 의해서 그들의 키나제 패널에서 입수 가능한 모든 키나제에 대해서 10 μ M의 농도에서의 표적외 키나제 활성에 대해서 시험되었다. 화합물 1은 밀리포어 사양에 따라서 각 개별의 키나제에 대해서 Km 부근의 ATP 농도에서 두 벌로 시행하였다. 그 결과는 이하의 표에 표시되어 있다. 데이터는 대조군의 퍼센트(POC)로서 보고되고, 두 반

복물의 평균치이다.

[0350]

키나제프로파일러(상표명)에서 화합물 1은 상기 패널에서 다른 키나제 대 TrkA를 저해하기 위한 현저한 예기치 않은 선택성을 나타내었다. 사실상, 화합물 1은 10 μM의 농도에서 표적외 키나제에 대해서 크게 비활성이었고, 따라서 포유동물에서의 치료 용량에서 표적외 키나제를 저해할 것으로 예상되지 않았었다. 다른 표적외 키나제를 저해하는 일 없이 Trk 경로를 선택적으로 저해하는 화합물 1의 능력은 표적외 키나제의 저해에 관련된 부작용이 본질적으로 없는 약물 프로파일로 해석될 수 있었다. 이러한 약물 프로파일은 이전에 보고되었던 것 이외의 통증, 염증, 암 및 소정의 피부 질환을 치료하는 더 안전한 접근법을 나타내었다.

키나제	화합물 1 평균 POC
AKT1	104
AKT2	104.5
AKT3	113.5
DMPK	98.5
GRK5	100
GRK6	98
GRK7	101
MRCK 알파	90.5
MRCK 베타	106.5
MSK1	129
MSK2	116.5
p70S6K	104
PDK1	104
PKAC-알파	129.5
PKC 알파	98.5
PKC 베타 I	102.5
PKC 베타 II	99.5
PKC 델타	102
PKC 앱실론	101.5
PKC 에타	100
PKC 감마	98
PKC 아이오타	91
PKC 테라	128.5
PKC 제타	97.5
PRK2	116
PRKG1 알파	109.5
PRKG1 베타	95.5
PrKX	115.5
ROCK-I	98.5
ROCK-II	105.5
Rsk1	102
Rsk2	93
Rsk3	107.5
Rsk4	105.5
SGK1	105
SGK2	112
SGK3	112.5
eEF-2K	112.5
mTOR	97.5
mTOR/FKBP12	105.5

[0351]

카나제	화합물 1 평균 POC
AMPK(A1/B1/G1)	102.5
ARK5	104.5
BrSK1	98
BrSK2	104
CAMK1	104.5
CAMK1d	130
CAMK2b	147.5
CAMK2d	97.5
CAMK2g	97
CAMK4	100
CHK1	109
CHK2	102.5
DAPK1	114
DAPK2	97
DAPK3	105.5
DCAMKL2	135
DRAK1	129.5
LKB1	104.5
MAPKAP-K2	115
MAPKAP-K3	99
MAPKAP-K5	89.5
MARK1	100
MARK2	109.5
MELK	105.5
MKNK2	111
MYLK	106.5
PASK	137.5
PhK 감마 2	108
Pim-1	103.5
Pim-2	117.5
Pim-3	106.5
PKD1	94.5
PKD2	94.5
SIK	108
STK33	101
TSSK1	104
TSSK2	108.5
CK1_y	91.5
CK1_델타	104
CK1 감마 1	78.5
CK1 감마 2	61.5
CK1 감마 3	104.5
VRK2	96
CDK1/사이클린 B	108

[0352]

키나제	화합물 1 평균 POC
CDK2/사이클린 A	94.5
CDK2/사이클린 E	102
CDK3/사이클린 E	94.5
CDK5/p25	115
CDK5/p35	97
CDK6/사이클린 D3	99.5
CDK7/사이클린 H/MAT1	99
CDK9/사이클린 T1	112
CLK2	102
CLK3	94.5
DYRK2	102
ERK1	94.5
ERK2	100
GSK3 알파	109.5
GSK3 베타	112
HIPK1	98.5
HIPK2	101.5
HIPK3	90
JNK1 알파 1	95
JNK2 알파 2	98.5
JNK3	114.5
MSSK1	127.5
NLK	94.5
p38 알파	107.5
p38 베타	102
p38 델타	105
p38 감마	114.5
SRPK1	96
SRPK2	96.5
AURKA	115
CK2 알파 2	106
Haspin	96.5
IKK 알파	101.5
IKK 베타	104.5
NEK11	94
NEK2	95
NEK3	104.5
NEK6	96
NEK7	104

[0353]

키나제	화합물 1 평균 POC
Plk1	99.5
Plk2	101
Plk3	100.5
TBK1	114.5
TLK2	101.5
ULK2	106
ULK3	107.5
WNK2	92.5
WNK3	115.5
LOK	125.5
MAP3K5	101
MAP4K2	101
MEK1	103.5
MINK	105
MKK4_m	125
MKK6	107.5
MKK7	125
MST1	107.5
MST2	102
MST3	103.5
PAK2	105.5
PAK4	97
PAK5	111
PAK6	114.5
TAO1	96
TAO2	100
TAO3	103
Abl2	110.5
Abl-P	110.5
ALK	89
Axl	115.5
BLK	82.5
Bmx	91.5
BTK	114
CSK	100
DDR2	121.5
EGFR	95.5
EphA1	94.5
EphA2	92.5
EphA3	95.5
EphA4	98
EphA5	109.5
EphA7	109
EphA8	110
EphB1	105.5
EphB2	98
EphB3	89.5

[0354]

키나제	화합물 1 평균 POC
EphB4	102
ErbB4	107.5
FAK	100.5
FAK2	92.5
Fer	103.5
Fes	102.5
FGFR1	117
FGFR2	99
FGFR3	108
FGFR4	105
Fgr	106
Flt1	97
Flt3	102
Flt4	98.5
Fms	103
Fyn	96.5
Hck	108.5
IGF-1R	80.5
IGF-1R 활성화	105
IR	84.5
IR 활성화	105.5
IRR	104.5
ITK	104
JAK2	126
JAK3	95.5
KDR	102.5
KIT	97.5
Lck	94
Lyn	104.5
Mer	147.5
Met	124.5
MuSK	95
PDGFR 알파	96
PDGFR 베타	96
PTK5	105
PTK6	106
Ret	111.5
Ron	100
Ros	112.5
Rse	102.5
Src	120
Syk	95.5
TEC 활성화	97
Tie2	82
TNK2	93.5

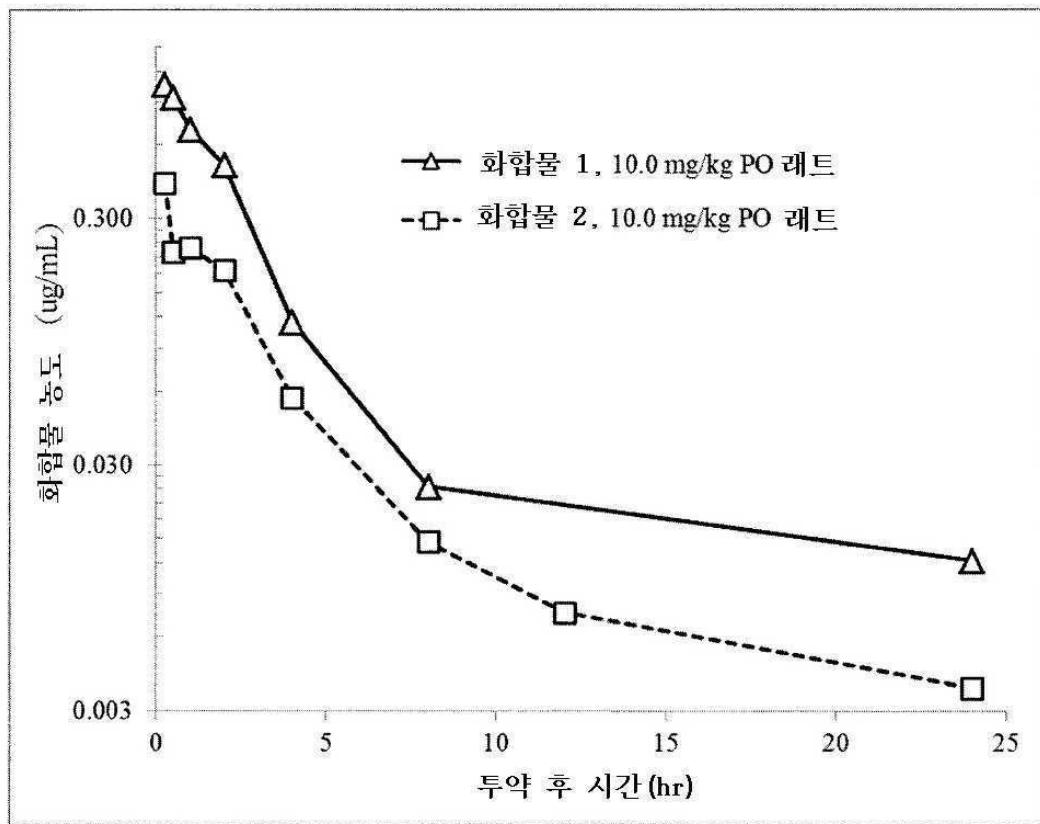
[0355]

키나제	화합물 1 평균 POC
TrkA	2.5
TrkB	1.5
Txk	67
Yes	98.5
ZAP-70	104.5
ALK4	106.5
c-RAF	101
IRAK1	103
IRAK4	98
LIMK1	98
m ℓ K1	109.5
RIPK2	90.5
TAK1-TAB1	101.5

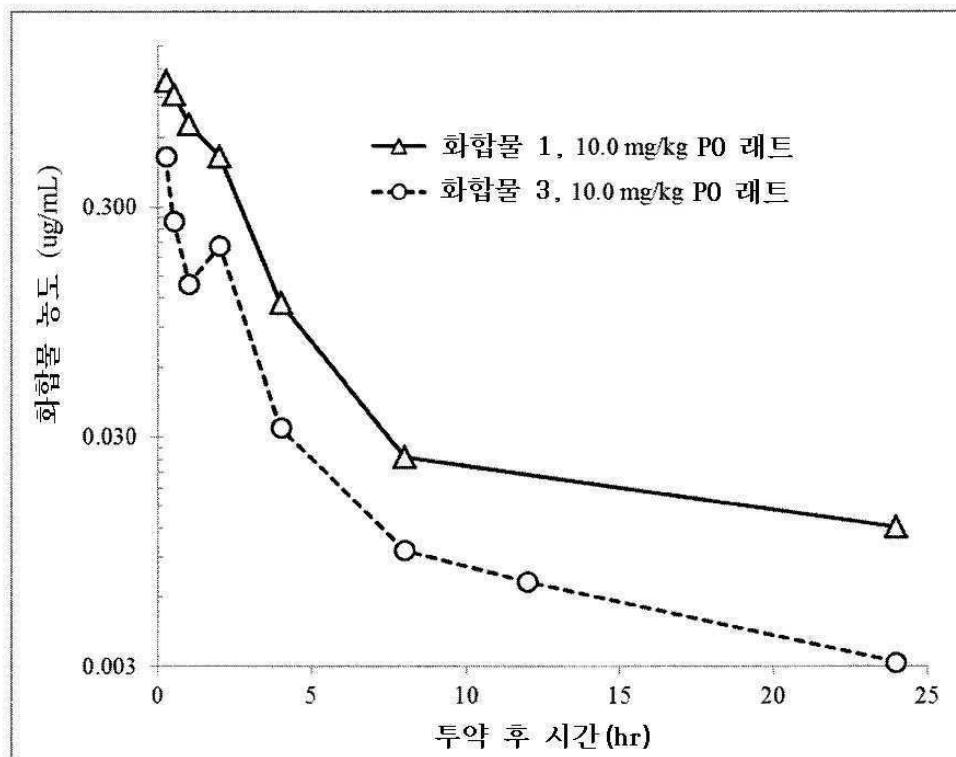
[0356]

도면

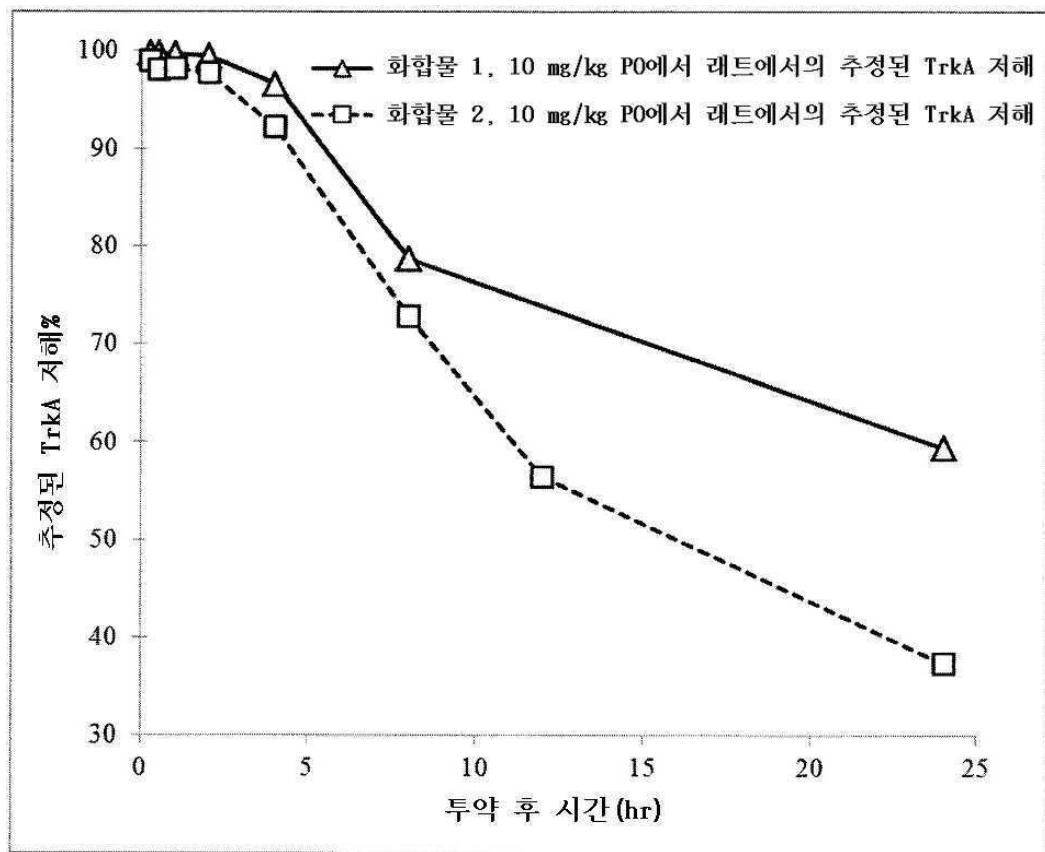
도면1



도면2



도면3



도면4

